

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**Frecuencia y características de lesiones  
anatomohistopatológicas compatibles con alteraciones  
metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas en la  
dieta de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de  
fase juvenil**

**TESIS**

para optar en título de Médico Veterinario

**AUTORA**

Evelyn Lisbeth Chávez Linares

Lima-Perú

2008

## INDICE

INDICE.....	vi
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Peces de cultivo.....	2
2.1.1 La piscicultura en el Perú.....	2
2.1.2 Ubicación taxonómica de la trucha arco iris.....	2
2.1.3 Características de la trucha arco iris.....	3
2.2 Etapas de producción.....	4
2.3 Factores que influyen en el cultivo de truchas arco iris.....	5
2.3.1 Agua.....	5
2.3.2 Temperatura.....	6
2.3.3 Oxígeno.....	6
2.3.4 Amoníaco.....	6
2.3. 5 Nitritos.....	7
2.3.6 Alcalinidad.....	7
2.3.7 Dióxido de carbono.....	7
2.4 Nutrición de las truchas arco iris.....	7
2.4.1 Energía.....	7
2.4.2 Proteína.....	10
2.4.3 Carbohidratos.....	12

2.4.4 Lípidos.....	13
2.4.5 Minerales.....	14
2.4.6 Vitaminas.....	15
2.4.6.1 Vitaminas hidrosolubles.....	16
• Ácido pantoténico.....	16
• Ácido ascórbico (vitamina C).....	16
2.4.6.2 Las vitaminas liposolubles.....	17
• Vitamina A.....	17
• Vitamina E.....	17
• Vitamina D (calcioferol).....	17
2.5 Enfermedades relacionadas a alteraciones nutricionales.....	18
2.5.1 De lípidos.....	18
2.5.1.1 Deficiencia de ácidos grasos esenciales (AGE).....	18
2.5.1.2 Peroxidación de lípidos.....	18
2.5.1.3 Degeneración grasa.....	20
2.5.2 De proteínas.....	22
2.5.2.1 Deficiencia dietética de aminoácidos esenciales.....	22
2.5.2.2 Degeneración hialina.....	22
2.5.3 De vitaminas.....	23
2.5.3.1 Deficiencia de ácido pantoténico.....	23
2.5.3.2 Deficiencia de vitamina C.....	23
2.5.3.3 Deficiencia de vitamina A.....	23
2.5.3.4 Deficiencia de vitamina D.....	24
2.5.3.5 Deficiencia de vitamina E.....	24
2.5.4 Deficiencia de minerales.....	24
III. MATERIALES Y METODOS.....	25
3.1. Metodología.....	25
3.1.1 Lugar y material del estudio.....	25
3.1.2 Animales.....	25
3.1.3 Alimentación de las truchas.....	25

3.2 Obtención de las muestra.....	26
3.2.1 Procesamiento de las muestras.....	26
3.2.1.1 Deshidratación y aclaración.....	26
3.2.1.2 Parafinado.....	26
3.2.1.3 Coloración.....	26
3.3 Clasificación de lesiones histopatológicas.....	28
3.4 Análisis de datos.....	30
IV. RESULTADOS.....	31
4.1 Lesiones compatibles con alteraciones metabólicas.....	31
4.1.1 Lesiones macroscópicas.....	31
4.1.2 Lesiones microscópicas.....	31
4.1.2.1 Hígado.....	31
4.1.2.2 Riñón y estómago.....	34
4.1.2.3 Branquias.....	37
4.2 Lesiones no compatibles con alteraciones metabólicas.....	40
4.2.1 Lesiones macroscópicas.....	40
4.2.1 Lesiones microscópicas.....	40
V. DISCUSIÓN.....	44
VI. CONCLUSIÓN.....	54
VII. RECOMENDACIONES.....	55
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	56
IX. APÉNDICE.....	68

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de lesiones anatomohistopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas en la dieta de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil. Se colectaron aleatoriamente 40 peces de una piscigranja ubicada en la provincia de Huancayo-Junín, tomándose principalmente muestras de hígado, riñón, branquias, estómago y bazo. Entre los hallazgos macroscópicos compatibles con alteraciones metabólicas observados con mayor frecuencia fue el hígado graso, caracterizado por una coloración marrón pálida en un 67.5% (27/40). En cuanto, a las lesiones histopatológicas compatibles con las alteraciones metabólicas se encontró degeneración grasa 97.5% (39/40), predominantemente en grado IV y la degeneración hialina en túbulos renales, 62.5% (25/40) y tan sólo 7.5% en glándulas gástricas de estómago. En branquias, los cambios de crecimiento como la hiperplasia (30/40), fusión (29/40) y atrofia lamelar (29/40) en un 75% y 72.5%, respectivamente, representando las lesiones de más alta frecuencia. En base a los hallazgos, se concluye que las lesiones compatibles con alteraciones metabólicas se observaron en una alta frecuencia, principalmente las relacionadas a exceso de proteína como la degeneración hialina en riñón y estómago, y la degeneración grasa en hígado por desbalance de energía. Finalmente, las lesiones en branquias sugieren una asociación entre alteraciones metabólicas y su efecto contaminante en el medio acuático.

**Palabras clave:** Trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, degeneración grasa, degeneración hialina, energía.

## SUMMARY

The purpose of this study was to determine frequency the presentation of anothomohistopathological lesions compatibles with metabolic disorders related to energy and proteins in the diet of juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Forty fish were collected randomly from the one trout hatchery, located in Huancayo-Junín, mainly taking samples of liver, kidney, gill, stomach and spleen. Between the macroscopic findings compatible with metabolic alterations observed with major frequency it was the fatty liver characterized by a brown pale coloration in 67.5% (27/40). As soon as, to the lesions histopatológicas compatible the metabolic alterations were found fat degeneration 97.5% (39/40), predominantly in grade IV and hyaline degeneration in renal tubules, 62.5% (25/40) and only 7.5% in glands gastric stomach. In gills, changes in growth such as hyperplasia (30/40), fusion (29/40) and lamellar atrophy (29/40) by 75% and 72.5% respectively, representing the highest frequency of lesions. Based on the findings, concluded that the lesions compatible the metabolic disorders were observed in a high frequency, principally related to excessive protein as hyaline degeneration in the kidney and stomach, and fatty degeneration in liver for balancing energy. Finally, the lesions on gills suggest an association between metabolic disorders and their polluting effect on the aquatic environment.

Key words: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fat degeneration, hyaline degeneration, energy.

## **LISTA DE CUADROS**

- Cuadro 1. Análisis químico proximal del alimento concentrado comercial suministrado a las truchas arcoiris, en la piscigranja de estudio.
- Cuadro 2. Grados establecidos, de acuerdo a la severidad de la lesión, de los diferentes procesos patológicos.
- Cuadro 3. Valores establecidos para la severidad y extensión de lipidosis hepática.
- Cuadro 4. Frecuencia de lesiones histopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas en hígado (n=40).
- Cuadro 5. Frecuencia de lesiones histopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas (n=40).
- Cuadro 7. Tipo y grado de lesiones microscópicas en branquias de truchas juveniles (n=40).

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. (A) Hígado con coloración normal, (B) hígado con coloración marrón pálida.
- Figura 2. Escasa degeneración grasa en hígado de trucha (flechas). H&E x 40.
- Figura 3. Leve degeneración grasa en hígado de trucha (flecha). H&E x 40.
- Figura 4. Moderada degeneración grasa en hígado de trucha. H&E x 40.
- Figura 5. Severa degeneración grasa en hígado de trucha. Se observa como es desplazado el núcleo a la periferia de la célula (flecha) H&E x 40.
- Figura 6. Necrosis coagulativa en túbulos renales ocasionada por la degeneración hialina (flechas). H&E x 40.
- Figura 7. Presencia de degeneración vacuolar en citoplasma de túbulos renales (flechas). H&E x 40.
- Figura 8. Riñón de trucha. Presencia de gotas hialinas en el citoplasma de las células tubulares (flechas). H&E x 40.
- Figura 9. Presencia de gotas hialinas en citoplasma de glándulas gástricas (Flechas). H&E x 40.
- Figura 10. Hiperplasia y fusión lamelar en branquias (Flecha). H&E x 10.
- Figura 11. Atrofia de filamento branquial y lamelas (Flechas). H&E x 40
- Figura 12. Fusión y atrofia de lamelas de la branquia (Flecha). H&E x 10
- Figura 13. Presencia de esporas de *Ictiophonus sp.* con reacción granulomatosa en hígado (A) (a, célula gigante; b, células epitelioides) y riñón (B). H&E x 40.
- Figura 14. Hígado de trucha. Se puede apreciar la presencia de hifas de *Ictiophonus sp.* (flecha A), produciendo severa necrosis del tejido (flecha B). H&E x 40.
- Figura 15. Severa presencia de hifas de *Ictiophonus sp.* (flecha A) produciendo necrosis del epitelio de la mucosa gástrica (flecha B). H&E x 10.
- Figura 16. Trastornos de crecimiento: (A) hiperplasia del epitelio y del conducto biliar (flecha) y (B) regeneración e hiperplasia de túbulos renales (flecha). H&E x 40.
- Figura 17. Trastornos de crecimiento: Hiperplasia del epitelio de la mucosa gástrica (flecha). H&E x 40.



## LISTA DE ABREVIATURAS

NRC	: National Research Council
ICA	: Incremento de calor de la alimentación
CHO	: Carbohidratos
AGE	: Ácidos grasos esenciales
PUFAS:	Ácidos grasos poliinsaturados
HUFAS:	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
CMM	: Centros melanomacrófagos
CGE	: Células granulares eosinofílicas
TBC	: Tuberculosis
BKD	: Enfermedad bacteriana del riñón

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de truchas es la de mayor producción dentro de la piscicultura continental. El éxito de los cultivos depende en gran medida de la calidad de la alimentación que reciben los peces, que también tiene un gran impacto sobre los costos de la producción. Los peces expuestos a los alimentos concentrados pueden presentar enfermedades de origen nutricional por deficiencias, excesos o desbalance de los componentes presentes en el alimento utilizado (Bastardo *et al.*, 1997); además puede producir una inmunosupresión en el animal y este se hace susceptible a agentes infecciosos o parasitarios (Kinkelin *et al.*, 1995).

En nuestro país, en comparación a otros países de Latinoamérica, la información de problemas que afectan la salud de los peces relacionados a la nutrición, que por ende afecta la producción, es incompleta. En el país existe poca o escasa información relativa a la relación entre la valoración energética y proteica de la ración y la presentación de lesiones histopatológicas en peces. Además es importante suministrar una dieta que optimice el uso de proteínas y energía, para poder reducir los desechos metabólicos y digestivos al medio acuático, donde el exceso actúa como contaminante. Por ello se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar la frecuencia de presentación de lesiones anatomohistopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas en la dieta de truchas arcoiris de fase juvenil.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Peces de cultivo**

#### **2.1.1 La Piscicultura en el Perú**

En comparación a lo que se da en otros países de America Latina, la piscicultura de agua dulce en el Perú, además de presentar un escaso nivel de desarrollo (Produce, 2007), esta básica y preferentemente orientada al cultivo de tan sólo dos especies: la trucha y la tilapia. No obstante, en los dos últimos años se registró alto crecimiento en la producción acuícola nacional, en un 34.66% en el 2007, en comparación al 2006, año en el cual se registro una producción total acuícola de 38,225.48 toneladas. Correspondiendo la producción de trucha arcoiris y de tilapia a la casi totalidad de la producción (96.17 %) de especies de origen continental, con un 74.48% y un 21.69% respectivamente.

La mayor producción de trucha arcoiris del país proviene del Departamento de Puno, seguido a aquel que se da en Junín; ambos con producciones anuales registradas para el 2007 (Produce, 2007) de 3.500 y 2.500 TM, respectivamente. Por cuanto, en ambos departamentos se localizan las mayores áreas dedicadas al cultivo de trucha arcoiris: de 61.34 hectáreas, en Puno, y 3.93, en Junín.

#### **2.1.2 Ubicación taxonómica de la trucha arcoiris.**

La trucha arcoiris se encuentra dentro de la siguiente clasificación (Smith and Sterley, 1999).

Reino	: Animalia
Sub-reino	: Metazozaria
Phylum	: Chordata
Clase	: Osteichthyes
Orden	: Isospondyli
Sub-orden	: Salmoneidei
Familia	: Salmonidae
Género	: Oncorhynchus
Especie	: <i>Oncorhynchus mykiss</i>
Nombre común	: Trucha arcoiris

### 2.1.3 Características de la trucha arcoiris

La trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) se caracteriza por presentar un cuerpo cubierto con finas escamas y de forma fusiforme (forma de huso). Su color varía de acuerdo al ambiente, edad, estado de madurez sexual, entre otros factores. Generalmente es de color plateado con la parte ventral de color crema y presenta lunares negros en el resto de la piel. La denominación de trucha arcoiris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades con predominio de una franja rojiza sobre la línea lateral del cuerpo (Produce, 2004).

La trucha se desarrolla en aguas frías, limpias, transparentes y bien oxigenadas. El rango de temperatura en el que se desarrolla la trucha satisfactoriamente, está entre 8°C y 17°C. También crecen en temperatura menor a los 9°C, pero su desarrollo es más lento. Las temperaturas mayores a los 19°C, por ser de bajo contenido de oxígeno disuelto, no son apropiadas para la trucha (Mantilla Mendoza, 2004).

La trucha arcoiris es una especie ovípara, cuya fecundación es externa, para reproducirse debe alcanzar la madurez sexual, lográndolo en el caso de las hembras a los 3 años de edad y a los 2 a 2 ½ años en machos. Las tallas promedio en que la trucha inicia el desove es variable, generalmente entre los 20 a 25 cm. en el caso de los machos y a los 25 a 35 cm. en las hembras, dependiendo mucho de los factores ambientales. La reproducción de la trucha se inicia aproximadamente en abril y se prolonga hasta el mes

de septiembre, siendo los meses de junio y julio los de mayor actividad reproductiva, los periodos de desove son anuales tanto en ambiente naturales como en crianza artificial que se dan en las piscigranjas (Produce, 2004).

## **2.4 Etapas de producción**

Las etapas de producción de la trucha arcoiris se inicia con las ovas o huevos embrionados, que constituyen la primera fase de la producción y deben mantenerse en bandejas dentro de la planta de incubación. Allí el suministro de agua debe ser de alta calidad. Las ovas deben estar en una sala oscura protegida de la luz, durante un periodo de aproximadamente 30 días, dependiendo de la temperatura del agua, después de este tiempo eclosionan las larvas, las cuales caen por los agujeros de las bandejas donde se alimentan de plancton hasta que se transformen en alevines y se adaptan al consumo de alimento balanceado (Brown, 2000; Produce, 2004).

Las larvas cuando se transforman en alevines son transportados a tanques rectangulares o circulares de alevinaje, donde se alimentan artificialmente y permanecen allí hasta que alcanzan la talla entre 10 cm y luego se trasladan a las pozas juveniles.

Los juveniles son trasladados a instalaciones circulares, dependiendo del centro de cultivo, permaneciendo por aproximadamente 4 a 5 meses, donde se seleccionaran cada 15 días para ser trasladados a pozas según su densidad poblacional, es decir, a más tamaño, menor densidad en pozas.

Seguidamente, en la etapa de engorde o acabado se seleccionan a los peces para administrarle un tipo de alimento especial previo a la saca, con lo cual se obtendrá el grado de coloración para la carne y el peso adecuado para venta (Brown, 2000).

Algunos peces adultos son seleccionados para constituir el plantel de reproductores de la piscigranja para posteriormente obtener ovas y realizar la fertilización artificial. Es conveniente que algún tiempo antes de la reproducción se separe las hembras de los machos (Brown, 2000; Produce, 2004).

## **2.5 Factores que influyen en el cultivo de truchas arcoiris**

De todos los salmónidos, ninguno es tan tolerante como la trucha arcoiris a diferentes rangos de temperatura, salinidad y a diferentes concentraciones de oxígeno (Brown, 2000)

### **2.3.1 Agua**

El medio acuático es el medio de vida de los peces y le brinda cierta ventaja tal como no necesitar gastar energía en soportar su propio peso; pero también tienen ciertas desventajas como por ejemplo, el agua como disolvente universal hace más difícil la prevención y control de la contaminación física y química (Brown, 2000; Mantilla Mendoza, 2004).

El alimento que consumen los peces se encuentra suspendido en el agua, pero también los productos de desechos como las heces. Todas las materias orgánicas están en íntimo contacto con las superficies corporales del pez y tienen que ser respiradas e ingeridas (Brown, 2000; Mantilla Mendoza, 2004).

La calidad del agua es uno de los factores más importantes en la crianza intensiva de los peces, pues de ella dependen una serie de factores que condicionan tanto la productividad como la aparición y desarrollo de procesos patológicos. Dicha calidad del agua, en los modernos sistemas de producción tienen una incidencia directa en la salud y el crecimiento de las especies en cultivo y de este modo juegan un papel en el desarrollo de los sistemas productivos (Rosenthal, 1989).

La trucha arcoiris se cría normalmente con un flujo continuo de agua para mantener la calidad de la misma en la piscigranja. De este modo, las piscifactorías están expuestas a dos tipos de agresiones en relación con la calidad de agua: los propios efectos de sus metabolitos y los posibles contaminantes que entran con el torrente de agua. Por ello, la calidad de agua se ha considerado uno de los factores limitantes para la acuicultura (Martínez-Pereda, 1996).

La mortalidad no es la única consecuencia a los problemas de calidad de agua. Los problemas con efecto subletal importantes son aquellos que afecta al crecimiento, los índices de conversión, reproducción y susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Tarazona *et al.*, 1990). Cualquier elemento tóxico en el ambiente puede causar una respuesta de estrés, lo que reduce la capacidad del organismo para expresar su potencial genético de desarrollo afectando a la producción (Schreck y Hiram, 1991)

### **2.3.2 Temperatura**

La temperatura influye sobre el control en el ritmo del desarrollo embrionario, crecimiento, engorde, consumo de oxígeno, la eficiencia en la conversión de su alimento (Brown, 2000). Idealmente la temperatura debe mantenerse constante, porque los cambios bruscos de temperatura pueden producir shock térmico con el consiguiente stress. El rango óptimo para el cultivo de truchas esta establecido entre 10°C y 16°C. (Produce, 2004).

### **2.3.3 Oxígeno**

Es el gas disuelto más importante en el agua, se considera un nivel mínimo de 6mg/l hasta 9mg/l para las truchas (Produce, 2004). La falta de oxígeno es considerado un factor de estrés pudiendo producir asfixia o disminución del crecimiento, mayor susceptibilidad a las agresiones (Kinkelin *et al.*, 1995). En general, los peces más pequeños tienen necesidades mayores de oxígeno por unidad de peso, que los de más edad (Brown, 2000).

### **2.3.4 Amoníaco**

El amoníaco ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) es excretado por los peces o producido por las bacterias por degradación de productos orgánicos, y su poder tóxico se debe a su forma no ionizada  $\text{NH}_3$  (Kinkelin, 1995). Su concentración máxima recomendada de amoníaco sin ionizar en el agua es de 0.025 mg/l. En dosis subletales (0.12 mg/l – 0.3mg/l) se observa hiperplasia branquial, aumento de la secreción mucosa, telangiectasia en las lamelas

conllevando a dificultad respiratoria; en ocasiones necrosis de las aletas natatorias y melanosis (Brown, 2000).

### **2.3.5 Nitritos**

Son productos intermediarios de la degradación biológica de sustancias que contienen nitrógeno orgánico, son solubles al agua y resultan de la oxidación del amoníaco (Brown, 2000; Mantilla, 2004; Produce, 2004). La exposición permanente a los nitritos produce lesiones branquiales, produciendo la transformación de hemoglobina a metahemoglobina lo que conlleva a la dificultad respiratoria hasta la asfixia de los peces (Kinkelin *et al.*, 1995).

### **2.3.6 Alcalinidad**

Es la medida de la concentración de los iones carbonatos y bicarbonatos en el agua, y refleja la capacidad tamponante, es decir la resistencia al cambio de pH. Es recomendable un rango aceptable de 50 a 200 ppm (Mantilla, 2004; Produce, 2004).

### **2.3.7 Dióxido de carbono**

Este gas se origina de la difusión de la atmósfera, la incorporación de aguas subterráneas, la descomposición de la materia orgánica y como productos residual de proceso respiratorio de los peces y otros organismos y su utilización en la fotosíntesis (Brown, 2000).

## **2.4 Nutrición de las truchas arcoiris**

### **2.4.1 Energía**

La energía no es un nutriente, sino es un producto terminal de los alimentos absorbidos en el intestino, que se libera durante la oxidación del metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos (NRC, 1993; Blanco, 1995). Tanto las proteínas como los lípidos son de alta disponibilidad como fuentes de energía para los peces (Cruz, 1975; Smith, 1976; Popma, 1982), especialmente en salmónidos (Cho y Kaushik,



1990), sin embargo; el uso de carbohidratos es limitado de acuerdo a la especie (Gillaume *et al.*, 2004).

La ingesta energética es un requisito básico de nutrición porque el mantenimiento de los procesos de vida tiene prioridad sobre el crecimiento y otras funciones. Por lo tanto la energía debe ser la primera consideración nutricional en la formulación de dietas de los peces.

La energía que es la unidad de peso de un insumo alimenticio se denomina energía bruta, que depende del valor calórico de las sustancias energéticas que integran su composición. Las grasas tienen el valor de energía bruta más alto que las proteínas y los carbohidratos (Blanco, 1995).

En el flujo de energía en los peces, hay muchos lugares donde la energía se pierde entre la ingesta y los productos de recuperación. Las pérdidas se producen por ejemplo en las heces, la orina, las excreciones branquiales y en forma de calor. La magnitud de las pérdidas depende principalmente de las características de la dieta y el nivel de la alimentación (NRC, 1993).

La energía que corresponde al porcentaje de alimento eliminado en forma de heces y que es pérdida de la energía bruta se denomina energía fecal. La energía fecal es la pérdida más importante que puede sufrir la energía bruta, si los nutrientes del pienso tienen baja digestibilidad (Blanco, 1995). La inclusión de materiales fibrosos que están son digeridos por los peces, incrementa las pérdidas por heces, aumentando la pérdida de energía fecal (NRC, 1993).

La diferencia entre energía bruta y la energía fecal es la energía digestible. En una ración con insumos de alta digestibilidad la energía digestible se aproxima a la del valor de la energía bruta. La digestión de un pienso conduce a la absorción de los aminoácidos, ácidos grasos y azúcares, que son las principales fuentes energéticas para los peces. Los productos finales de la combustión de las grasas y de glúcidos son el agua y anhídrido carbónico, que no tiene restos de energía a diferencia de los productos finales de los aminoácidos, que son el amoniaco, agua y anhídrido carbónico. El

amoníaco se elimina mayormente por las branquias y en menor cantidad por la orina en forma de úrea. Las pérdidas de energía por la orina y branquias dependen de la cantidad de proteína digestible del pienso y de su valor biológico; más alta su calidad más se destinará a la formación de músculos en los peces y menor la destinada a la combustión, teniendo en cuenta que las grasas van a compensar el desgaste de energía. Por ello, en estas pérdidas de energía es importante la relación proteína/energía de la ración, así como la calidad de proteínas. Estas pérdidas en las fórmulas utilizadas para truchas arcoiris representan del 12 a 13% de la energía digestible (Blanco, 1995).

La energía metabolizable, es la medida mas apropiada de la disponibilidad de la energía. Los peces utilizan una parte de dicha energía para cubrir sus necesidades energéticas que se produce como consecuencia del incremento calórico originado por la ingestión, digestión y utilización metabólica del alimento (Blanco, 1995). En el incremento de calor de la alimentación (ICA), los factores que contribuyen a este, son la digestión y absorción en los procesos, la transformación y conversión de sustratos y la formación y excreción de desechos metabólicos (NRC, 1993). El ICA depende en gran medida del equilibrio de nutrientes de la dieta y plano de la nutrición (Brody, 1945) y, en peces, también de la temperatura del agua (Cho y Slinger, 1979).

El ICA en los peces es mayor en dietas con alto contenido de proteínas (Cho, 1982; Blanco, 1995). Cuando la proteína contenida en la dieta se acompaña con alto contenido de grasa, la pérdida de esta energía es menor, porque la energía procedería de la combustión de las grasas, las cuales generan menor gasto de oxígeno (Blanco, 1995). En los mamíferos y aves, sin embargo, en las dietas con alto contenido de proteínas el incremento de energía es aún más marcada debido al gasto de energía durante la síntesis de úrea o ácido úrico, respectivamente (Martín y Blaxter, 1965). En contraste, el amoníaco principal producto de desecho nitrogenado del catabolismo de las proteínas en los peces, su gasto energético es menor (Goldstein y Forster, 1970). Debido a esta forma de nitrógeno que puede fácilmente ser liberado en el agua, el gasto energético para la síntesis de úrea es mínimo (Cowey, 1975). Por lo tanto, debido al menor incremento de calor en los peces, la energía neta es mayor en los peces que en los mamíferos y aves (NRC, 1993). Los peces requieren una determinada cantidad de energía para las funciones necesarias de mantenimiento que se denomina energía de mantenimiento, una

parte importante de esta energía se gasta para el metabolismo basal (NRC, 1993; Blanco, 1995). Una pequeña parte se dedica a la actividad voluntaria o descanso. Debido a que los peces no regulan su temperatura corporal gastan menos energía para mantener su posición en el agua que los animales terrestres en el mantenimiento de su temperatura, el requisito de energía metabolizable en los peces es menor que en los homeotermos (NRC, 1993).

La energía metabolizable que no ha sido gastado por el pez en la digestión, mantenimiento corporal o actividad física se llama energía neta (EN) o retenida, que es aquella retenida en el cuerpo desarrollando nuevos tejidos, siendo almacenada en forma de proteínas fundamentalmente formando músculos y parte como grasa. Cuando un animal esta en crecimiento, la mayor parte de esta energía lo hace en forma de proteína y cuando es adulto lo hace en forma de grasa (Blanco, 1995).

Una apropiada proporción de proteína/energía digestible influencia de manera relevante la eficiencia de utilización de la proteína y energía de las dietas (Cho, 1982). Así, al aumentar los niveles de energía de las dietas y disminuir apropiadamente el contenido de proteína, se logra una mayor retención de nitrógeno y energía, lo que favorece el crecimiento (Hillestad y Johnsen, 1994; Morais *et al.*, 2001), disminuyendo la descarga nitrogenada al medio acuático (Arzel *et al.*, 1994; Kaushik y Medale, 1994). Una elevada ingesta de energía y un inapropiado balance proteína/energía dan como resultado que una parte de la energía sea retenida como lípidos (Cho y Kaushik, 1990; NRC, 1993). Las dietas hiperenergéticas producen un menor consumo de alimentos, debido a que los peces regulan su ingesta por el contenido energético de la dieta (Cho y Kaushik, 1990; NRC, 1993; Silverstein *et al.*, 1999).

#### **2.4.2 Proteína**

La proteínas son el principal nutriente en el alimento de las truchas y es el componente fundamental de su organismo. Su principal función en los peces de crianza intensiva es para fines de mantenimiento y crecimiento. El mantenimiento incluye la síntesis de proteínas funcionales, gluconeogénesis y energía. El excedente de proteínas es catabolizado resultando en la producción de energía y como productos finales

tenemos al amoníaco que es eliminado por las branquias en la fracción iónica tóxica  $\text{NH}_3$  y pequeñas cantidades de úrea, anhídrido carbónico y agua, también el catabolismo de aminoácidos contribuye a la formación de reserva de hidratos de carbono y grasas (Wilson, 1989; Blanco, 1995).

Con el objetivo de conseguir la máxima producción de proteína muscular en truchas de crianza intensiva es necesario alimentarlas con dietas que contengan niveles altos de proteína de buena calidad del orden de 35-50% (NRC, 1993; Blanco, 1995).

Los mayores requerimientos de proteínas en truchas se producen en la situación de crecimiento activo y en relación con la edad. Así, durante el inicio de su alimentación requiere de alrededor del 48-50%, disminuyendo a las 2 semanas al 40% y al año de edad se reduce hasta el 37% (Blanco, 1995). Sin embargo, las dietas deben tener una apropiada proporción de proteína (g)/energía digestible (Mcal) (92-105 g. proteína x Mcal), ya que esto influye sobre la eficacia de utilización de la proteína y energía en las dietas (Cho, 1982).

Las necesidades de proteínas de los peces están influenciados por varios factores como: el tamaño de los peces, la temperatura del agua, nivel de alimentación, contenido de energía digestible de la dieta (Shepherd y Bromage, 1999), naturaleza de la proteína y calidad de las materias primas (Barnabé, 1991). La calidad de la proteína utilizada en el alimento balanceado básicamente se debe a su digestibilidad y al contenido de aminoácidos esenciales.

Generalmente, la mayor parte de proteínas de la dieta de los peces son de origen animal, sobretodo de harina de pescado blanco, debido a que posee una alta digestibilidad (Barnabé, 1991; Blanco, 1995) y un balance de aminoácidos necesarios en los peces (NRC, 1993). La digestibilidad es mayor en los peces de menor edad, ya que sus necesidades de crecimiento son mayores y su capacidad absorbente es también mayor. La digestibilidad de proteínas disminuye cuando en la dieta se incluye gran cantidad de glúcidos. El porcentaje graso en general, no afecta la digestibilidad de las proteínas; pero si cuando esta procede de harina de pescado graso con cierto grado de oxidación (Blanco, 1995).

### 2.4.3 Carbohidratos

Los carbohidratos pueden actuar como fuente de energía o reserva de energía, almacenada en forma de glucógeno en hígado y músculos (Blanco, 1995; Shepherd y Bromage, 1999).

Los peces están mucho más limitados en capacidad para el metabolismo de carbohidratos de la dieta, en comparación con las aves y los mamíferos (Roberts, 1989). El uso de carbohidratos (CHO) como fuente de energía digestible en la dieta de los peces tiene importancia económica en la acuicultura, debido a que si los carbohidratos no son provistos en la dieta, más proteínas serán catabolizadas para energía y síntesis de glucosa, lo que altera la retención de proteína y aumenta la liberación de nitrógeno al medio ambiente (Suárez y Mommsen, 1987; Cowey, 1989; Wilson, 1994). Por lo tanto, es importante proporcionar la concentración adecuada de carbohidratos en la dieta de las especies de peces de cultivo (NRC, 1993). Los niveles de CHO en la dieta debería ser inferior al 12% (Blanco, 1995).

La capacidad de los peces para utilizar los CHO de la dieta difiere entre las especies. Los estudios han indicado que la carpa común, bagre de canal, pargo rojo y la tilapia utilizan cantidades más elevadas que el pez de cola amarilla y los salmónidos (NRC, 1993). El excesivo nivel, particularmente en ciprínidos ornamentales, pueden producir degeneración hepática y excesivos depósitos de glicógeno (Roberts, 1989).

En trucha arcoiris, la administración oral de glucosa así como la alta ingestión de CHO resulta en una pobre utilización de glucosa en la dieta asociada con hiperglucemia prolongada. Las dietas ricas en CHO son muy perjudiciales para las truchas, pueden provocar alteraciones metabólicas como el exceso de glucógeno en el hígado, originando hepatomegalia y trastornos patológicos (NRC, 1993; Blanco, 1995).

Entre las razones para explicar la dificultad de la trucha arcoiris a usar dietas con alto nivel de CHO son la reducida capacidad secretora de insulina, la cual permite la utilización de glucosa por las células, diversidad de enzimas que intervienen en la

digestión de los CHO son inactivas y la actividad reducida de las enzimas hepáticas cuando las dietas son ricas en CHO (Shepherd y Bromage, 1999).

#### 2.4.4 Lípidos

En los peces, los lípidos juegan un papel importante como fuente de producción de energía debido a que la mayoría de estos, digieren mal los glúcidos complejos (Guillaume *et al.*, 2004), también aportan ácidos grasos esenciales (AGE) que son necesarios para el crecimiento y desarrollo del pez (NRC, 1993; Blanco, 1995). Por último pueden actuar como transportadores de vitaminas liposolubles y pigmentos carotenoides en el momento de la absorción intestinal (Blanco, 1995; Guillaume *et al.*, 2004).

Los peces digieren bien las grasas del orden del 85-99%, dependiendo de su origen, debido a que su absorción es más lenta que en los mamíferos. La digestibilidad es mayor cuando es menor su punto de fusión, observado mayormente en ácidos grasos insaturados; por lo tanto los peces digieren mejor las grasas insaturadas que las saturadas (Tacon, 1992; Blanco, 1995).

En los peces, la síntesis de los ácidos grasos tiene lugar en el hígado. Los principales ácidos grasos neosintetizados son el palmitato, el estearato y el miristato. Pero el aporte más importante de los lípidos se da con los ácidos grasos que no pueden ser sintetizados por los peces y deben ser aportados por el alimento a estos se les llama ácidos grasos esenciales (AGE) que son el ácido linoleico (18:2 n-6) y el linolénico (18:3 n-3). Estos dos ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS), o sus derivados de cadena larga (HUFAS) deben ser aportados con la alimentación de acuerdo a las necesidades de cada especie (Guillaume *et al.*, 2004).

Los requisitos de AGE varían entre especies, en general los peces de agua dulce como el ayu, bagre, salmón coho y la trucha arcoiris necesitan del ácido linoléico (18:2 n-6) o del ácido linolénico (18:3 n-3) o de ambos (NRC, 1993), debido a que poseen la capacidad de bioconversión de los ácidos grasos de la serie de carbono 18 (18C) a

HUFA, especialmente observado en truchas (Guillaume, *et al.* 2004); mientras que para los peces marinos en su dieta los ácidos grasos esenciales (AGE) importantes y necesarios son los HUFAS como el ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3 o EPA), ácido docosahexaenoico (22:6 n-3 o DHA) y araquidónico (20:4 n-6) (NRC, 1993; Guillaume *et al.*, 2004).

Los requisitos para la trucha arcoiris son de la familia del ácido linolénico y es del orden del 1% de la dieta o del 20% de los lípidos de la dieta (Takeuchi y Watanabe, 1977), los cuales son necesarios para el máximo crecimiento, conversión del pienso y ausencias de patología (NRC, 1993; Blanco, 1995; Bazán, 2002). El requerimiento preferencial de los peces por la serie n-3 sobre la serie n-6 es debido a la baja temperatura del medio acuático. La importancia de la serie n-3 para los peces de agua fría es por su bajo punto de fusión, pues al ser incorporados en los fosfolípidos de las membranas mantiene la permeabilidad incluso a bajas temperaturas (Herpher, 1993; NRC, 1993).

En las truchas arcoiris, una dieta con un exceso de AGE n-3 del 4% de 18:3 o 2% de 20:5 y 22:6 retrasan el crecimiento y disminuye la eficacia alimentaria y el exceso de ácido linoleico de más del 2% de la dieta produce efectos depresivos sobre el crecimiento en las truchas (Barnabé, 1991).

Las actuales tendencias en la alimentación piscícola, especialmente en salmónidos, es el aumentar el contenido lipídico de los alimentos. En los salmónidos se estima que un contenido lipídico del 15% al 20% permite reducir el contenido proteico del 48% al 35% sin alterar los resultados zootécnicos, permitiría aumentar la eficacia proteica y una mejor utilización de la energía. Lo cual, también contribuiría a una disminución de la contaminación del medio acuático (Guillaume *et al.*, 2004).

#### **2.4.5 Minerales**

En agua dulce, los peces pueden absorber algunos minerales, no solo de su dieta sino también de su medio acuático a través de las branquias y la piel (NRC, 1993; Kinkelin *et al.*, 1995). Los elementos inorgánicos son necesarios para la formación de la

estructura esquelética, transferencia de electrones, regulación del equilibrio ácido-básico y la osmoregulación. También son componentes importantes de las hormonas y enzimas.

El calcio juega un papel importante en la contracción muscular, formación de coagulación sanguínea, transmisión de impulsos nerviosos y el mantenimiento de la integridad celular. La absorción del calcio se produce a través de branquias, aletas y epitelios orales, sin embargo las branquias son consideradas el sitio más importante de regulación de calcio (NRC, 1993).

El fósforo es un importante constituyente de los ácidos nucleicos y de la membrana celular (NRC, 1993), teniendo un alto requerimiento durante el crecimiento y mineralización de los huesos y también en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Shepherd y Bromage, 1999). La dieta es la principal fuente de fosfato para los peces debido a que la concentración de fosfatos en aguas naturales es baja, para la trucha arco iris el requerimiento mínimo de fósforo es de 0.5% a 0.8%.

En crianza intensiva puede presentarse carencias de minerales por las siguientes causas: La no inclusión de una premezcla específica de macroelementos u oligoelementos en la alimentación y la disminución de la disponibilidad biológica de minerales a causa de desequilibrios de los elementos ingeridos, adecuado almacenamiento en el cuerpo, interacción con otros minerales e interacción de los minerales con otros ingredientes dietéticos o con sus metabolitos (NRC, 1993).

#### **2.4.6 Vitaminas**

La producción intensiva de truchas demanda una suplementación de vitaminas en la dieta, y la estabilidad de las mismas es uno de los principales factores que afectan la vida media del alimento (Brown, 2000).

Las vitaminas son complejas sustancias orgánicas, usualmente de bajo peso molecular, los cuales son esenciales para una variedad de procesos metabólicos. Las



vitaminas son requeridas en pequeñas cantidades en la dieta; pero su requerimiento puede aumentar durante el crecimiento y desove (Roberts, 1989).

Las vitaminas son divididas en dos clases, vitaminas hidrosolubles y vitaminas liposolubles (Roberts, 1989; NRC, 1993).

#### **2.4.6.1 Vitaminas hidrosolubles**

En general están presentes en concentraciones muy bajas en las dietas de los peces y son altamente vulnerables a la lixiviación en el agua antes de su consumo. Las reservas de estas vitaminas en los peces se consumen rápidamente, necesitando un suministro constante para prevenir síntomas de deficiencia, aunque los casos clínicos por deficiencias de una sola vitamina hidrosoluble es baja (Brown, 2000).

**Ácido pantoténico** El ácido pantoténico es extensamente distribuido en alimentos, pero su deficiencia, sin embargo, ocurre en los peces. Cumple la función de coenzima en el metabolismo de los lípidos y carbohidratos (Roberts, 1989).

**Ácido ascórbico (vitamina C)** Es el más inestable dentro de las vitaminas necesarias en los peces (Hilton *et al.*, 1989). Por lo tanto, el grado de destrucción de ácido ascórbico en el alimento da algunas indicaciones de los métodos de producción y las condiciones de almacenamiento (Cho, 1982).

La vitamina C es esencial para la formación del colágeno, cicatrización, hematopoyesis, participa en el sistema antioxidante (Lall, 2000), ayuda a la calcificación de los huesos (Brown, 2000), también ha demostrado ser efectiva para reducir el impacto negativo del medio ambiente y crianza inducida por estrés y proporciona mayor resistencia a enfermedades. Las dosis altas de la vitamina C aumentan la resistencia a varios patógenos bacterianos y virales en los peces (Waagbo, 1997; Verlhac y Gabaudan, 1997). Estas enfermedades incluyen: enfermedad entérica, septicemia hemorrágica viral, necrosis hepática infecciosa, ichthyophthiriosis en trucha de arcoiris; vibriosis y furunculosis en trucha de arcoiris y salmón Atlántico; y

septicemia entérica en pez gato. Los mecanismos propuestos de la resistencia de enfermedad varían entre especies (Lall, 2000).

Los peces alimentados con dietas bajas en vitamina C son más susceptibles a estrés causado por la pobre calidad del agua con presencia de altos niveles de amoníaco y bajo niveles de oxígeno. Dietas con altos niveles (mas de 300 mg/Kg) de ácido ascórbico tienen menos efectos nocivos ante niveles tóxicos de cobre (Hilton, 1989), nitritos (Wise *et al.*, 1988), pesticidas organoclorados en salmónidos (Lall, 2000).

#### **2.4.6.2 Las vitaminas liposolubles**

Son capaces de almacenarse en el organismo y se metaboliza muy lentamente, debido a que la hipervitaminosis resultante de la ingesta es posible con las vitaminas liposolubles.

**Vitamina A** Es esencial para la formación de una estructura normal y para el correcto funcionamiento del ojo y las branquias y para el mantenimiento general de los epitelios (Brown, 2000).

**Vitamina D (calcioferol)** Es un grupo de esteroides termoestables, en mamíferos son responsables de la prevención del raquitismo (Roberts, 1989).

**Vitamina E** Esta vitamina esta presente en varios tocoferoles; la forma biológicamente más activa es el alfa tocoferol (Brown, 2000). Son extensamente usados como antioxidantes en la dieta de los peces, componente del mecanismo de protección contra los efectos tóxicos de los radicales libres (Roberts, 1989) y requerido también para el óptimo funcionamiento del sistema inmune tanto en mamíferos como en peces (Lall, 2000).

Normalmente los radicales libres son controlados por un complejo mecanismo bioquímico, que incluye al manganeso y cobre/zinc dependiente, superóxido dismutasa, la enzima selenio/dependiente, glutatión peroxidasa y otras enzimas (Sies *et al.*, 1992). Bajo ciertas condiciones la producción de radicales libres se desenfrena, produciendo

que los radicales libres inicien una reacción en cadena de peroxidación de los lípidos de los ácidos grasos poliinsaturados, de fosfolípidos de membranas y del rompimiento de la función celular, donde entraría a actuar la vitamina E para prevenir la proliferación de la reacción en cadena (Lall, 2000).

## **2.5 Enfermedades relacionadas con alteraciones de nutrientes**

### **2.5.1 De lípidos**

#### **2.5.1.1 Deficiencia de ácidos grasos esenciales (AGE)**

Los peces alimentados con dietas experimentales deficientes en ácidos grasos esenciales (AGE) han presentado disminución del crecimiento, alteraciones cutáneas, disminución de la conversión alimenticia, síndrome de shock y alta mortalidad (Tacon, 1995). Han demostrado en carpa común, trucha arco iris y besugo rojo disminución del desempeño reproductivo (NRC, 1993). En truchas arcoiris con deficiencias de AGE se puede observar elevado contenido de agua en el músculo, mayor vulnerabilidad a la erosión de la aleta caudal por *Flavobacterium sp*, esteatosis, hepatomegalia con palidez hepática (Tacon, 1995).

#### **2.5.1.2 Peroxidación de lípidos**

Las truchas arcoiris necesitan de altos niveles de lípidos (10-18%) en especial los AGE, comparación con otros animales, debido a ello, la calidad del lípido es fundamental, siendo el aceite de pescado marino o la harina de pescado los de mayor uso, los cuales son muy susceptibles a la oxidación (Cho, 1982; Cowey y Roberts, 1983).

Los alimentos presentan ácidos grasos insaturados que en contacto con el oxígeno, especialmente los PUFAS y los HUFAS, son más susceptibles a la peroxidación (Guillaume *et al.*, 2004). Cuando esto ocurre el beneficio nutricional de los AGE se convierte, en perjudicial para la salud de los peces (Tacon, 1995). Durante el proceso de autooxidación se forman productos de degradación química como los radicales libres,

peróxidos, hidroperóxidos, aldehídos y cetonas los cuales reaccionan a su vez con otros lípidos, proteínas y vitaminas provocando disminución de su valor y disponibilidad biológica durante la digestión (Halver, 1972; Roberts, 1989; Tacon, 1995; Guillaume *et al.*, 2004; Iregui, 2004). Puede producir una disminución del crecimiento, diarrea, esteatosis hepática, aumento de la mortalidad (Tacon, 1995; Guillaume *et al.*, 2004), letargia, coloración oscura de la piel (Halver, 1972), además produce daño a diversas estructuras celulares como los epitelios de los órganos como estómago, ciegos pilóricos, intestino y riñones, entre otros (Tacon, 1995). Las alteraciones que frecuentemente se observan en el riñón son reducción del tejido hematopoyético (Halver, 1972; Iregui, 2004), degeneración tubular, regeneración tubular y alteraciones en el glomérulo (Iregui, 2004).

Los peróxidos también pueden producir aumento en la cantidad de centros melanomacrófagos (CMM) en distintos órganos pero particularmente en el riñón, bazo y arcos branquiales. Sin embargo, también están presentes en la piel y el hígado (Iregui, 2004).

En el caso de que produzca deficiencia de vitamina E podemos encontrar en los peces alteraciones como cardiomegalia, lisis de hematíes, anemia, distrofia de músculos esqueléticos (Tacon, 1995; Iregui, 2004). En casos severos, la necrosis de músculos estriados también puede ser asociada con el movimiento opercular. El consiguiente daño de la irrigación de las branquias, sin duda, contribuye a consecuencias de anemia (Ferguson, 2006).

También puede ocasionar deficiencias del ácido pantoténico inducidas por peróxidos produciendo cambios branquiales como pérdida de filamento, pérdida de lamelas, hiperplasia branquial, fusión lamelar (Iregui 2004).

La mejor forma de prevención es la adición de antioxidantes y de ácido ascórbico en las dietas. El método más fácil para disminuir la presencia del problema de autooxidación es la adición en elevadas dosis de vitamina E, que en el caso de las truchas arco iris y del pez gato americano, se puede usar dosis de 300 a 350 mg/Kg de alimento (Guillaume *et al.*, 2004).

### **2.5.1.3 Degeneración grasa**

La degeneración grasa es la excesiva acumulación de grasa principalmente grasa neutra (triglicéridos) en el citoplasma de células de tejidos no adiposos (Trigo, 1993). Llamado también esteatosis o lipidosis hepática, estas grasas pueden localizarse de manera difusa o focalizada, en forma de pequeñas o grandes vacuolas definidas en el citoplasma de los hepatocitos (Roberts, 1989; Ferguson, 2006).

Todos los salmónidos son susceptibles a la degeneración grasa del hígado; pero esto es particularmente un problema significativo en el cultivo de truchas arcoiris (Roberts, 1989), debido a alimentos en estado de rancidez (Reincherbach-Klinke, 1980).

Una de las principales causas de la degeneración grasa tenemos a la sobrecarga de alimento con un elevado nivel de ácidos grasos poliinsaturados, que favorece las condiciones para la autooxidación de los lípidos (rancidez) y para los depósitos de ceroides en el hígado (Halver, 1972, Tacon, 1995, Ferguson, 2006). La ausencia de antioxidantes (como la vitamina E) en la dieta y cuadros que causan trastornos anémicos o procesos de éxtasis sanguíneo son factores predisponentes al desarrollo de lipidosis hepática (Jones y Hunt, 1990).

Una dieta deficiente en proteínas puede producir una disminución en la síntesis de apoproteína o proteína transportadora de lípidos, lo que conlleva a que los ácidos grasos no tengan con quien unirse, y se acumularían en el hepatocito.

Las deficiencias nutricionales de cofactores como colina, impide la conversión de ácidos grasos libres en fosfolípidos, a su vez también interfiere con la síntesis de proteína, por ende no se va a sintetizar la proteína transportadora de lípidos ocasionando que los lípidos se queden depositados en el hígado (Trigo, 1993).

En los peces que padecen de degeneración grasa, a veces se pueden observar algunos signos clínicos como es la reducción de apetito, oscurecimiento de la piel, a menudo suele presentarse exoftalmia, edema abdominal, branquias pálidas y conducta alterada

(Halver, 1972). En fases mas avanzadas los peces suelen separarse del grupo, con tendencia a flotar cerca de la orilla (Ferguson, 2006) y suele presentarse una severa anemia macrocítica ocasionada por la deficiencia de la vitamina E debido a grasas rancias en la dieta (Smith, 1979).

Esta degeneración hace que los tejidos hematopoyéticos renales y esplénicos tengan elevados niveles de centros melanomacrófagos. Está, también frecuente la hematopoyesis auxiliar en el tejido subepicardial y áreas periportales (Roberts, 1989).

En la degeneración grasa, el hígado excede en su capacidad de movilización de triglicéridos y se acumulan en los hepatocitos. Al inicio la grasa muestra poca tendencia a fusionarse y se observa como pequeñas vacuolas en el citoplasma del hepatocito cuyo núcleo, aún no esta desplazado.

La severidad de la hepatitis grasa se relaciona con el tiempo de alimentación y tipo de dieta (Alabaster y Lloyd, 1982; Spisni *et al.*, 1998). En los casos severos afecta a la mayor parte del parénquima hepático, como resultado de la fusión de las vacuolas que altera el contorno de la célula y desplaza ligeramente al núcleo, los sinusoides están comprimidos y se muestran anémicos, también se observa vacuolas de grasa en el epitelio de conductos biliares (Jubb *et al.*, 1990). La degeneración grasa severa no produce necesariamente una disfunción hepática, pudiendo retornar a su normalidad estructural y funcional una vez que el defecto metabólico desaparezca, siendo su curso a la restitución celular. Pero cuando los casos conllevan a trastornos crónicos podemos observar fibrosis, acumulación de pigmentos (ceroides, lipofucsina) e hiperplasia nodular (Jubb *et al.*, 1990). La degeneración grasa puede ser también el estadio previo a la cirrosis hepática y eventualmente de un subsiguiente hepatoma (Reincherbach-Klinke, 1980).

La lipidosis hepática se previene ofreciendo a los animales una dieta balanceada, evitando subproductos oxidados y grasas rancias (Halver, 1972, Calderón, 1998). Los tocoferoles previenen la oxidación y el ranciamiento de las grasas en los alimentos (Halver, 1972). Se conoce también que la vitamina E y la vitamina C (ácido ascórbico)

en las dietas rancias, forman una combinación de sinergismo en la prevención de la lipidosis hepática y anemia microcítica en la trucha arcoiris (Roald, 1976; Smith, 1979).

## **2.5.2 De proteínas**

### **2.5.2.1 Deficiencia dietética de aminoácidos esenciales**

Algunas deficiencias de aminoácidos producen aumento de la mortalidad en los peces, así mismo también la presentación de lesiones, tal es el caso de la deficiencia de lisina que produce erosión de las aletas dorsal y caudal, la deficiencia de metionina produce cataratas al igual que la deficiencia de triptófano, la deficiencia de este último aminoácido además, produce escoliosis, lordosis, disminución del contenido lipídico y calcicosis renal, debido a elevadas concentraciones de calcio, magnesio, sodio y potasio (Roberts, 1989; Tacon, 1995).

### **2.5.2.2 Degeneración hialina**

La degeneración hialina de las células epiteliales es uno de los cambios típicos que ocurre en los túbulos renales. Se puede observar gránulos eosinofílicos también llamado gotas hialinas, de tamaño variable, depositadas en el citoplasma del epitelio de los túbulos renales (Ferguson, 2006), debido a la reabsorción del exceso de sustancias proteináceas filtradas por el glomérulo (Hibiya, 1982).

Se ha demostrado en peces, que el material hialino encontrado en el citoplasma de las células de diferentes órganos (hígado, riñón, intestino y estómago), podría ser consecuencia de un mal manejo de las proteínas de las dietas (Jones *et al.*, 1997; Iregui, 2004).

El daño en la vasculatura glomerular de los riñones en los peces, debido a herbicidas, fumonisina *B* (micotoxina), antiinflamatorios podrían producir la presencia de gotas hialinas en el citoplasma de los túbulos. También las gotas hialinas, son muy notables en los salmónidos asociados con tóxicos y altos niveles de amonio, debido a que el amoniaco incrementa la permeabilidad de la membrana basal (Ferguson, 2006).

En los casos severos, la excesiva acumulación de gránulos eosinofílicos puede producir necrosis, en los cuales se evidencia picnosis y vacuolización del citoplasma (Hibiya, 1982).

### **2.5.3 De vitaminas**

#### **2.5.3.1 Deficiencia de ácido pantoténico**

La deficiencia de ácido pantoténico puede producir disminución del apetito, hiperplasia de las lamelas primarias, fusión de las lamelas secundarias

#### **2.5.3.2 Deficiencia de vitamina C**

Entre los principales signos de deficiencia de vitamina C en peces encontramos la falta de apetito, pérdida de peso, y menor eficiencia alimentaria (Cho, 1982; Tacon, 1995), deficiencia en la formación de colágeno, escoliosis, lordosis espinal, deformación del opérculo y lamelas (Roberts, 1989; Tacon, 1995), hemorragia intestinal, mayor mortalidad y disminución de la eclosión (Tacon, 1995).

En diversos trabajos realizados en trucha arco iris, trucha marrón, salmón coho y tilapias, expuestos a un periodo de deficiencia de vitamina C, se observó la deformación de la diatesis del cartílago, distrofia (Roberts, 1989).

#### **2.5.3.3 Deficiencia de vitamina A**

La hipovitaminosis A puede producir un pobre crecimiento, queratomalacia, ceguera y hemorragias en la base de las aletas y acortamiento de los arcos branquiales y opérculo (Roberts, 1989), exoftalmia, despigmentación y formación de nubosidades en el epitelio corneal, degeneración de la retina (Tacon, 1995).



#### **2.5.3.4 Deficiencia de vitamina D**

Su deficiencia se ha demostrado experimentalmente en salmónidos y catfish (Roberts, 1989), en los cuales puede producir hígado graso y elevado contenido lipídico en músculo (Tacon, 1995).

#### **2.5.3.5 Deficiencia de vitamina E**

Entre las condiciones clínicas asociadas con deficiencia de vitamina E en salmónidos se encuentran la distrofia muscular, esteatitis, patologías en el músculo cardíaco y digestivo, anemia (Roberts, 1989), menor crecimiento, exoftalmia, ascitis, obstrucción branquial, menor resistencia inmune y palidez de las branquias (Tacon, 1995).

En carpas (*Cyprinus carpio*) privadas de vitamina E por 90 días, la característica mas resaltante es la distrofia muscular (Watanabe *et al.*, 1970; Takeuchi y Watanabe, 1977).

#### **2.5.4 Deficiencia de minerales**

Se ha reportado que la deficiencia de fósforo produce crecimiento reducido, y desmineralización de los huesos; mientras que la deficiencia de calcio conlleva a la anorexia, crecimiento reducido y escasa eficiencia del alimento. Así mismo la deficiencia de magnesio produce crecimiento reducido, anorexia, cataratas, calcinosis renal, curvatura vertebral, degeneración de fibras musculares, de las células del epitelio de los ciegos y de los filamentos branquiales. Entre otras deficiencias de minerales tenemos la de zinc y manganeso que producen cataratas, crecimiento disminuido y erosión de aletas (Tacon, 1995).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. METODOLOGÍA**

##### **3.1.1 Lugar y material de estudio**

El presente estudio se llevó a cabo en muestras de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) obtenidas en una piscigranja ubicada a 3452 msnm, en el distrito de Ingenio, provincia de Huancayo, departamento de Junín, durante los meses de Mayo-Junio del 2006. La piscigranja tiene como fuente de abastecimiento de aguas al río Chía.

El procesamiento de las muestras para el análisis histopatológico se realizó en el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

##### **3.1.2 Animales**

El número de muestras fueron obtenidas según el Teorema de Limite Central, el cual nos indica que el número de muestras debe ser de 30 animales, como mínimo. En el presente estudio se seleccionaron aleatoriamente un total de 40 truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles de 6 meses de edad, con peso y talla promedio de 50 g y 13.5 cm, respectivamente, procedentes de 20 pozas de crianza y sin distinción de sexo.

##### **3.1.3 Alimentación de las truchas arcoiris**

La alimentación suministrada a las truchas arcoiris juveniles en crianza intensiva de la piscigranja de estudio, corresponde a un alimento balanceado comercial, para la etapa

juvenil de producción, le suministraban el de fase de crecimiento, de dicho balanceado comercial. Cuyo análisis químico proximal, que informa la empresa, se presenta en el Cuadro 1, dicho alimento fue elaborado con los siguientes ingredientes:

- Harina de pescado
- Harina de soya
- Subproductos de maíz
- Aceite de pescado
- Melaza

Cuadro 1. Análisis químico proximal del alimento concentrado comercial suministrado a las truchas arcoiris, en la piscigranja de estudio.

	<b>Pre- Inicio</b>	<b>Inicio</b>	<b>Crecimiento</b>	<b>Acabado</b>	<b>Acabado</b>
		I y II	I y II	I y II	pigmentado
<b>ÍNDICES</b>	48%	44%	42%	40%	40%
	Hasta 5 g	5 g a 14 g	15g a 100g	100 g hasta peso comercial	
% Proteína, Mín.	48	44	42	40	40
% Grasa, Mín.	12	12	12	12	10
% Carbohidratos	10	0	0	0	0
%Fibra, Máx.	5	3	3	3	5
% Humedad, Máx.	14	14	14	14	14
% Cenizas	15	12	12	12	12
% Calcio	1,2	1,5	1,3	1,3	1,2
% Fósforo	1	1,2	1,1	1,1	1

### 3.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRA.

Los materiales que se utilizaron para la toma de muestra del presente estudio se mencionan a detalle en el Anexo A1. Los animales fueron identificados y evaluados, en cuanto a su apariencia externa, la presentación de algún tipo de lesiones o

anormalidades, posteriormente se procedió al sacrificio mediante la técnica de corte medular. Así mismo, se realizó la necropsia siguiendo la metodología recomendada por Ferguson (2006), realizando el examen macroscópico según el protocolo (Anexo A2) y tomando muestras de los órganos internos como: branquias, estómago, hígado, bazo y riñón. Las muestras fueron fijadas en formalina tamponada al 10% para su posterior análisis histopatológico.

### **3.2.1 Procesamiento de las muestras.**

Las muestras de estómago, hígado, riñón, branquias y bazo de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) siguieron una serie de procedimientos para poder realizar su lectura histopatológica (Anexo A3).

#### **3.2.1.1 Deshidratación y aclaración.**

Las muestras de los tejidos fueron deshidratadas a través de sucesivas inmersiones, en alcohol etílico a diferentes concentraciones y contenidas en frascos “coplín”. Finalmente se efectuaron los recambios respectivos con xilol para su aclaramiento.

#### **3.2.1.2 Parafinado.**

Las muestras deshidratadas, fueron sumergidas en parafina líquida, haciendo los recambios respectivos, para luego ser colocadas en refrigeración hasta lograr su solidificación y formar pequeños bloques, posteriormente fueron cortados, con la ayuda de un microtomo en secciones de 5 a 6 micras de espesor.

#### **3.2.1.3 Coloración.**

Las láminas fueron coloreadas con Hematoxilina-Eosina (H-E) (Anexo A4) a fin de proceder a su posterior lectura histopatológica.

### 3.5 CLASIFICACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS.

La evaluación de las lesiones histopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteína y los otros tipos de lesiones histopatológicas observadas fueron clasificadas para cada órgano como: trastornos degenerativos, crecimiento, circulatorio, inflamatorio, infeccioso y otros, así como su severidad se determinó mediante grados, propuestos por Reimschuessel *et al.*, 1992, y que fue modificado por el Laboratorio de Embriología, Histología y Patología de la Facultad Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Cuadro 2) (Ramos, 2007).

Cuadro 2. Grados establecidos, de acuerdo a la severidad de la lesión, de los diferentes procesos patológicos.

Grado	SEVERIDAD
I	Escasa presencia de la lesión, hasta 25% de toda la muestra.
II	Leve presencia de la lesión, del 25% hasta 50% de toda la muestra.
III	Moderada presencia de la lesión, del 50% hasta 75 de toda la muestra.
IV	Severa presencia de la lesión, del 75% hasta 100% de toda la muestra.

Grados: I= Multifocal, II= Multifocal, III= Difuso y IV= Difuso

**Fuente:** Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992.

Para el caso de las alteraciones compatibles con lipidosis hepática, se fijó aquel procedimiento propuesto por Bernet *et al.* (1999), fue modificado por el Laboratorio de Embriología, Histología y Patología de la Facultad Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, valorándose diferentes grados de calificación entre 0 y 4, de acuerdo a la severidad y la extensión de la lesión (Cuadro 3) (Rosenthal, 2007).

Cuadro 3. Valores establecidos para la severidad y extensión de lipidosis hepática.

Grado	SEVERIDAD	EXTENSION
0	Ausencia de vacuolas.	No presencia de vacuolas de bordes definidos en el citoplasma.
1	Escasa presencia de micro vacuolas, predominantemente de borde definido	Multifocal, hasta el 25% aprox. de todo el hígado
2	Leve presencia de micro y/o macro vacuolas de borde definido	Multifocal, del 25% hasta 50% aprox. de todo el hígado
3	Moderada presencia de macro y micro vacuolas de borde definido, núcleo ligeramente desplazado.	Difuso, del 50% hasta 75% aprox. de todo el hígado
4	Severa presencia de macro vacuolas en el citoplasma del hepatocito, núcleo aplanado y ligeramente ovalado.	Difuso, del 75% hasta 100% aprox. de todo el hígado

0: Imágenes negativas de la grasa.

1: Se mantiene la arquitectura del hepatocito.

2: Con mayor compromiso de las células hepáticas.

3. Con ligera distorsión de la arquitectura del hepatocito.

4: Pérdida de la citoarquitectura de los hepatocitos y muy unidos entre si.

Fuente: Adaptada de Bernet *et al.*, 1999.

### 3.6 ANALISIS DE DATOS

La frecuencia de ocurrencia de lesiones anatomohistopatológicas compatibles con alteraciones del metabolismo energía y/o proteínas en la dieta de truchas arco iris y otras alteraciones histopatológicas, fueron clasificados de acuerdo al órgano, serán analizados mediante la formula:

$$\frac{\text{Nº de animales con "X" lesión}}{\text{Nº total de muestras}} \times 100$$

X = alteraciones clínicas

N = tamaño muestral

## IV. RESULTADOS

Los resultados que seguidamente se dan a conocer corresponden a muestras de truchas arcoiris de 6 meses de edad (juveniles), para analizar sus características anatomohistopatológicas relacionadas con aquel régimen alimenticio energético y proteico, producto de su crianza en piscigranjas, en un ambiente de valle interandino (trópico de altura, a 3452 msnm), en Huancayo, Junín.

### 4.1 Lesiones compatibles con alteraciones metabólicas

#### 4.1.1 Lesiones macroscópicas

A la necropsia, la lesión macroscópica (Fig. 1) observada con mayor frecuencia fue la presencia de hígado de coloración marrón pálida 67.5% (27/40), que al corte también se mostraban pálidas (Cuadro A1).

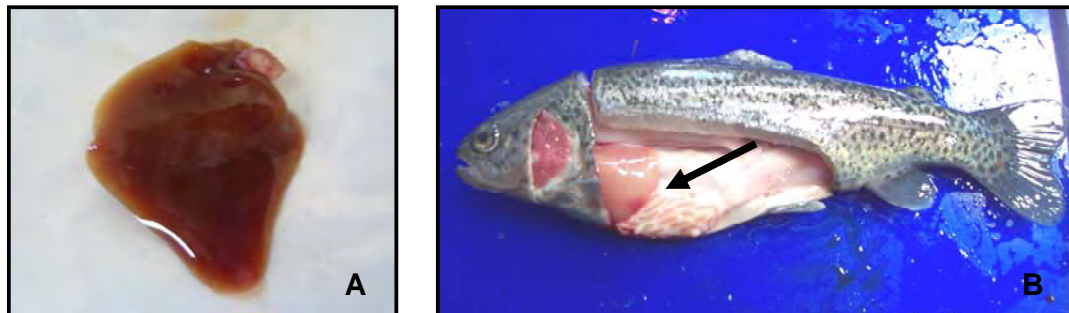


Figura 1. (A) Hígado con coloración normal, (B) Hígado con coloración marrón pálida.

#### 4.1.2 Lesiones microscópicas

##### 4.1.2.1 Hígado

Con respecto a las alteraciones histológicas hepáticas (Cuadro 4), los trastornos degenerativos presentaron la más alta frecuencia, dentro de los cuales, la degeneración



grasa fue la mayor con un 97.5% (39/40) (Fig. 2) (Fig. 3), predominando los cambios degenerativos de grado III (Fig. 4) y IV (Fig. 5), observándose micro y/o macro vacuolas de borde regular, que desplazan ligeramente al núcleo a la periferia de la célula.

Cuadro 4. Frecuencia de lesiones histopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas en hígado (n=40).

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
<b>DEGENERATIVOS</b>	Degeneración grasa	3	5	12	19	39	97,5
	Necrosis coagulativa	9	14	10	2	35	87,5

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo ( Adaptado de Reimschuessel *et al.*, 1992).

Clasificación de grados de degeneración grasa, de acuerdo a la severidad y extensión:

I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Bernet *et al.*, 1999.).

?: porcentaje.

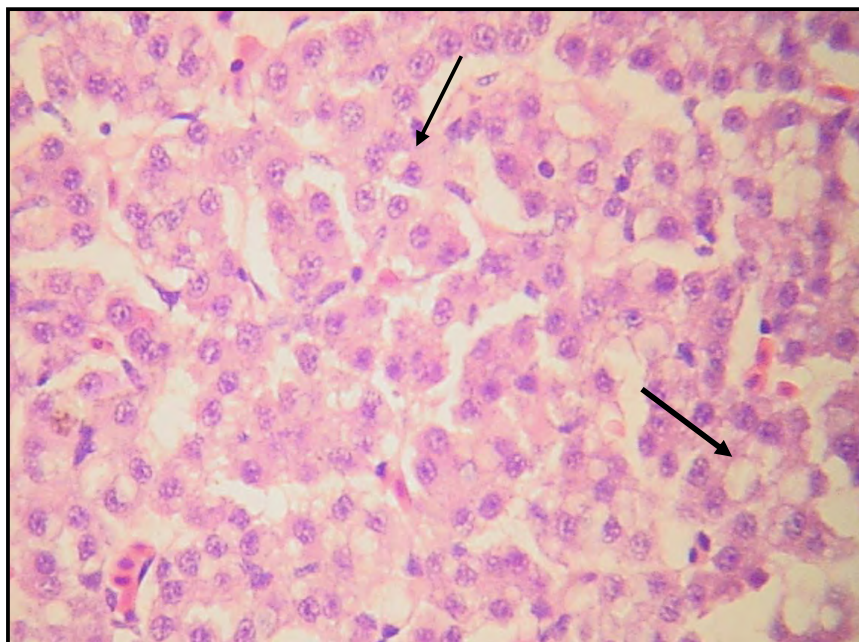


Figura 2. Escasa degeneración grasa en hígado de trucha (flechas). H&E x 40.

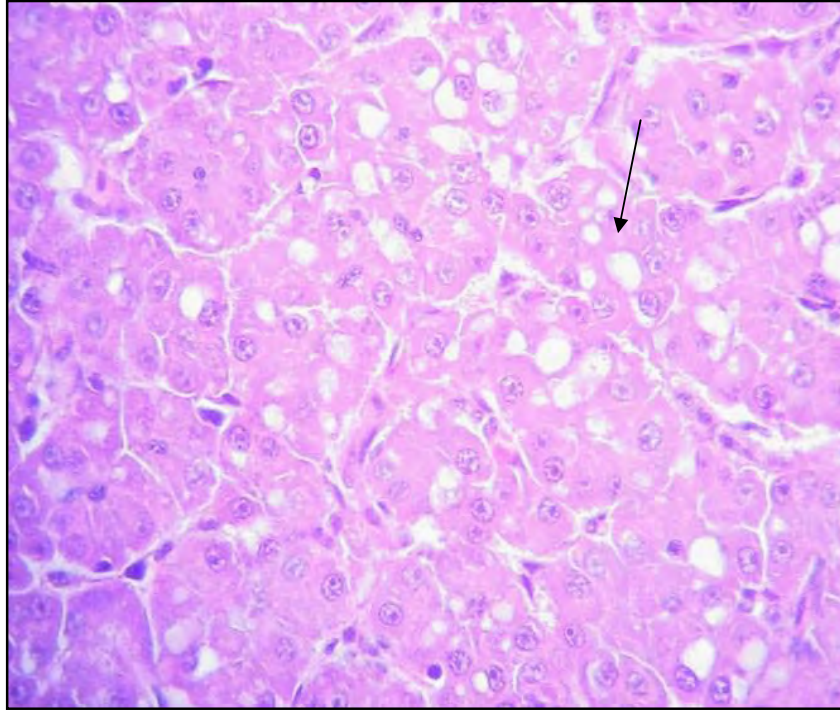


Figura 3. Leve degeneración grasa en hígado de trucha (flecha). H&E x 40.

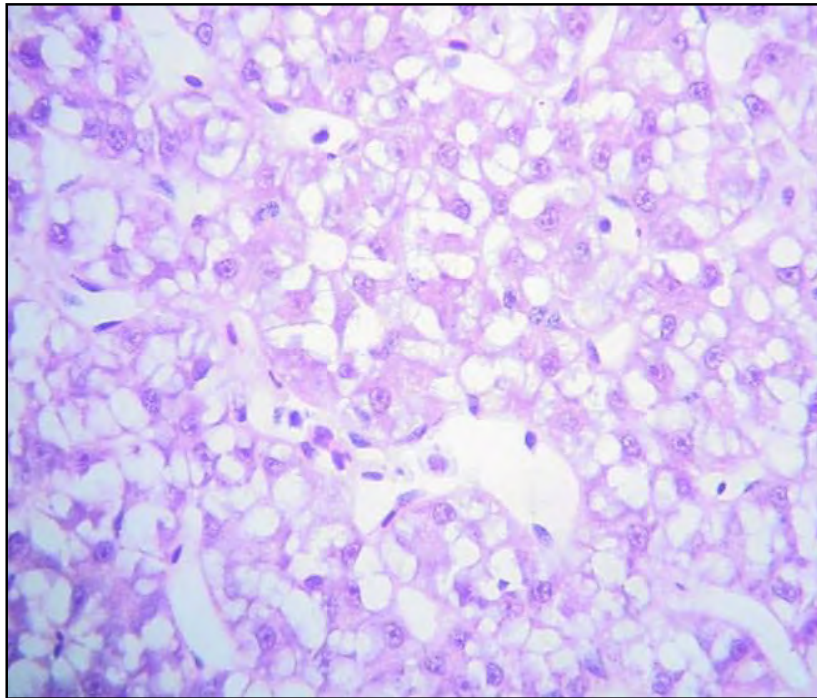


Figura 4. Moderada degeneración grasa en hígado de trucha. H&E x 40.

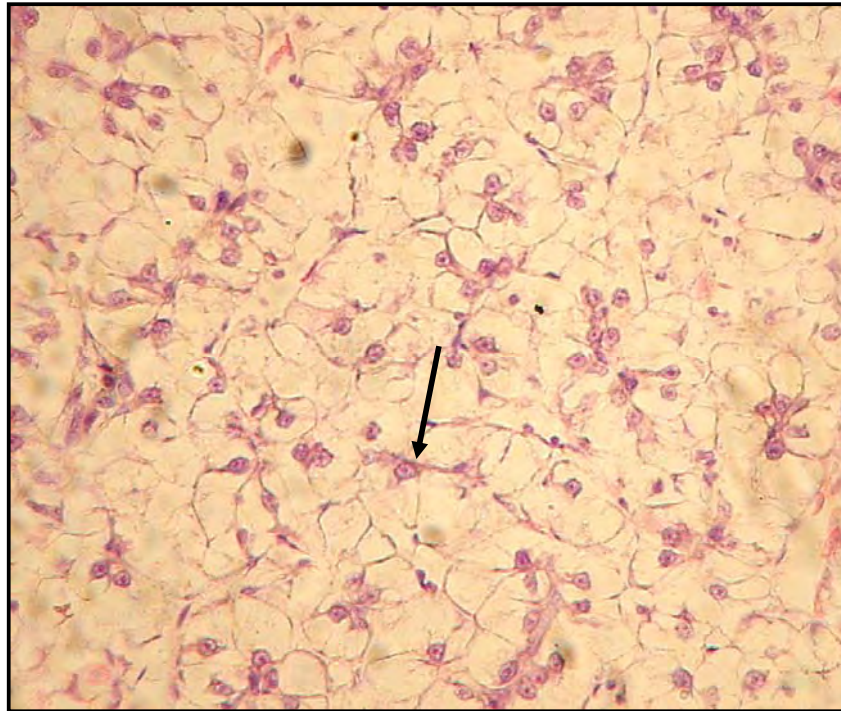


Figura 5. Severa degeneración grasa en hígado de trucha. Se observa como es desplazado el núcleo a la periferia de la célula (flecha) H&E x 40.

#### 4.1.2.2 Riñón y estómago

Con respecto a las alteraciones histológicas renales (Cuadro 5), los trastornos degenerativos presentaron la más alta frecuencia, dentro de ellos, la necrosis coagulativa del epitelio tubular (Fig. 6) con un 90% (36/40) predominantemente en grado II (14/40) y grado III (10/40), seguida por la degeneración hialina (micro y/ o macro gotas hialinas) 62.5% (Fig. 8) y degeneración vacuolar, 52.5% (Fig. 7), lesiones que conllevaron en muchos de los casos a la necrosis de los túbulos renales.

Las alteraciones histopatológicas en estómago (Cuadro 5) asociadas a acúmulos de proteínas con presencia de gotas hialinas, fueron inferiores a las observadas en el riñón, en un 7.5% (2/40) (Fig. 9).



Cuadro 5. Frecuencia de lesiones histopatológicas compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a energía y/o proteínas (n=40).

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
DEGENERATIVOS	Riñón						
	Necrosis coagulativa	7	14	10	5	36	90
	Degeneración hialina	10	7	4	4	25	62,5
	Degeneración vacuolar	6	10	5	0	21	52,5
	Estómago						
	Degeneración hialina	1	1	1	0	3	7,5

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).  
%: porcentaje.

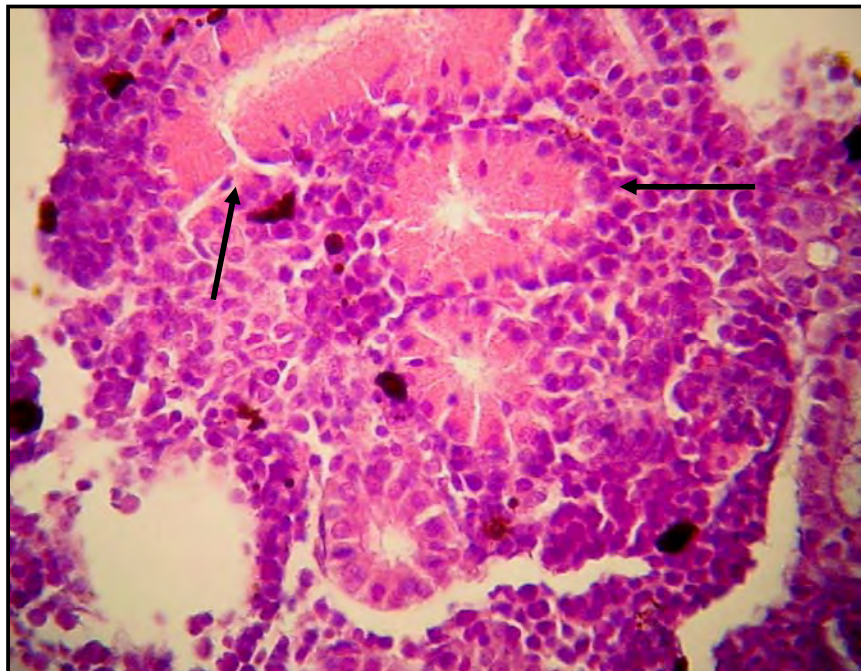


Figura 6. Necrosis coagulativa en túbulos renales ocasionada por la degeneración hialina (flechas). H&E x 40.

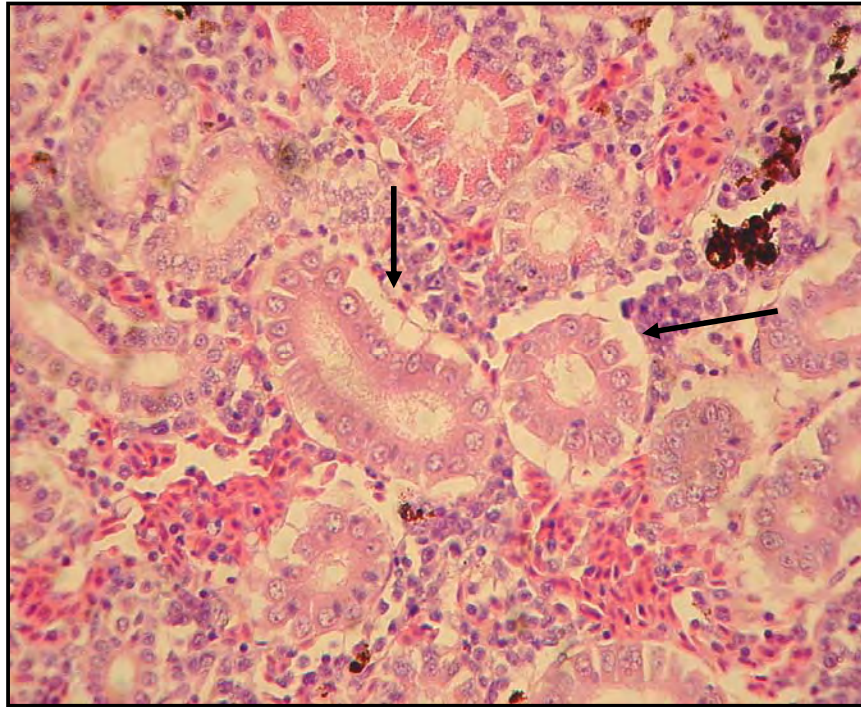


Figura 7. Presencia de degeneración vacuolar en citoplasma de túbulo renales (flechas).  
H&E x 40.

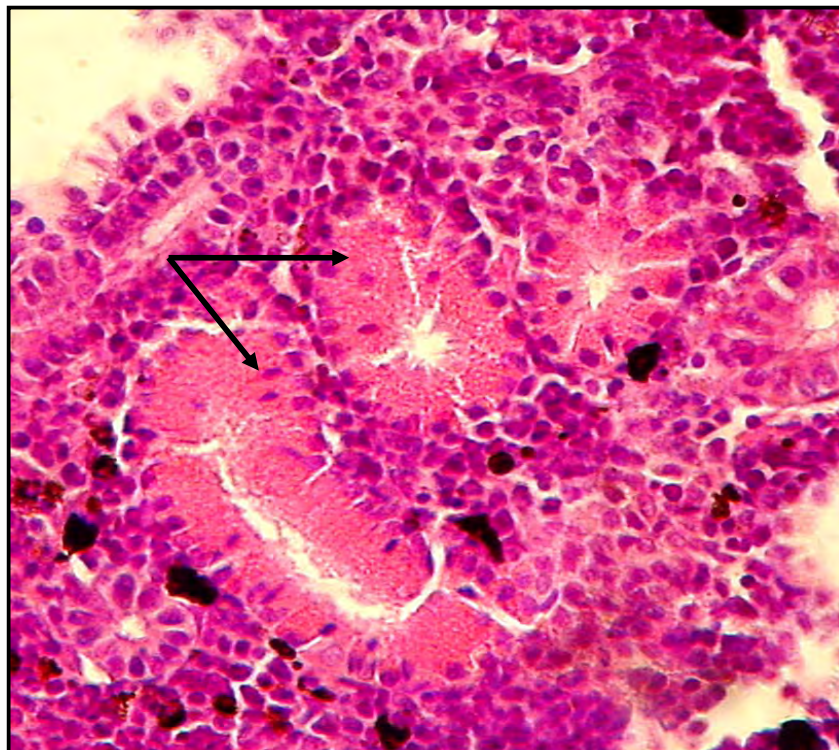


Figura 8. Riñón de trucha. Presencia de gotas hialinas en el citoplasma de las células tubulares (flechas). H&E x 40.

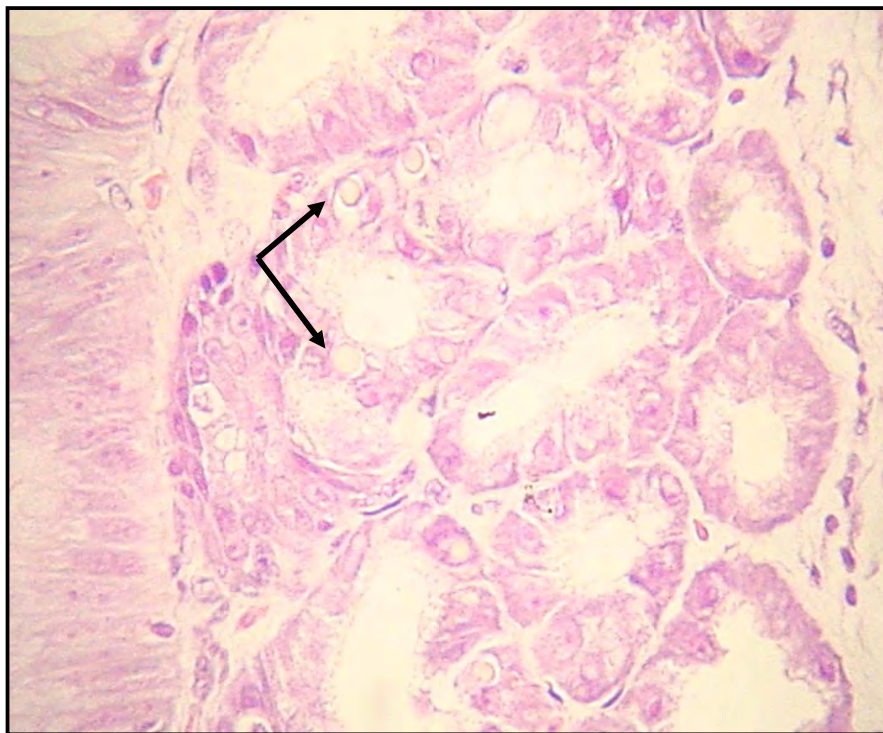


Figura 9. Presencia de gotas hialinas en citoplasma de glándulas gástricas (Flechas).  
H&E x 40.

#### 4.1.2.3 Branquias

De las alteraciones histológicas en las branquias (Cuadro 6), se observó en una mayor frecuencia las asociadas a trastornos de crecimiento como la hiperplasia de las lamelas 75% (30/40) (Fig. 10), la atrofia de lamelas, predominantemente en grado I (12/40) y II (14/40) (Fig. 11) y la fusión lamelar (Fig. 12) estas últimas lesiones en un 72.5% (29/40).



Cuadro 6. Tipo y grado de lesiones microscópicas en branquias de truchas juveniles (n=40).

TRASTORNOS	LESIÓN	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
<b>DE CRECIMIENTO</b>	Hiperplasia Lamelar	11	10	9	0	30	75
	fusión lamelar	14	9	6	0	29	72,5
	Atrofia de lamelas	12	14	3	0	29	72,5
	Atrofia de filamento	8	5	8	1	22	55

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).  
%: porcentaje.



Figura 10. Hiperplasia y fusión lamelar en branquias (Flecha). H&E x 10.



Figura 11. Atrofia de filamento branquial y lamelas (Flechas). H&E x 40

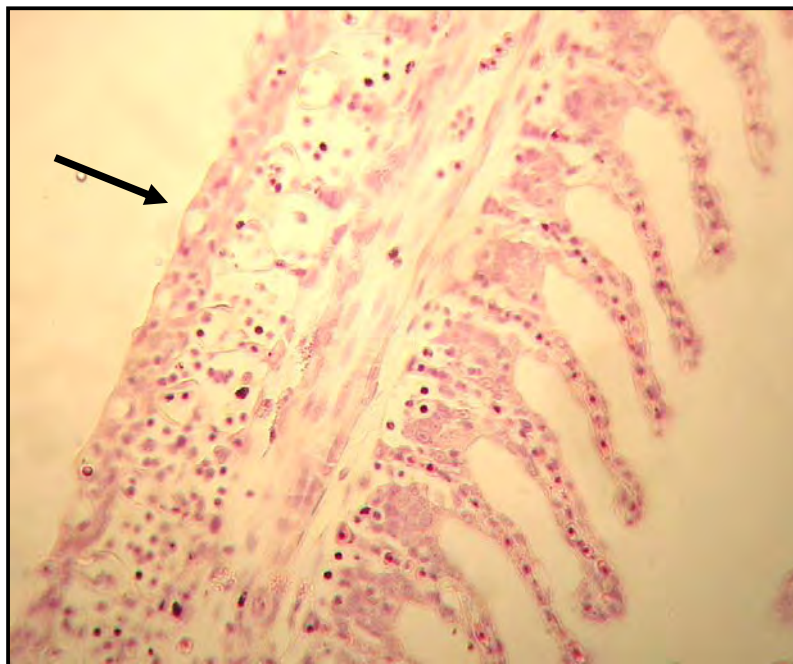


Figura 12. Fusión y atrofia de lamelas de la branquia (Flecha). H&E x 10



## 4.2 Lesiones no compatibles con alteraciones metabólicas

### 4.2.1 Lesiones macroscópicas

Se observaron otras lesiones macroscópicas no compatibles con alteraciones metabólicas, tales como: presencia de puntos de apariencia blanquecina, del tamaño de cabeza de alfiler en varios órganos y pequeñas nodulaciones anaranjadas en el estómago (Cuadro A1).

### 4.2.2 Lesiones microscópicas

Además se observaron lesiones infecciosas como: la presencia de esporas de hongos *Ictiophonus sp.* en varios órganos, con mayor frecuencia en riñón (50%) e hígado (30%) (Fig. 13) (Cuadro A2), y asociados también a granulomas, también se observó la fase hifal de dicha espora induciendo a severa necrosis en hígado (Fig. 14) y epitelio de la mucosa del estómago extendiéndose hasta su capa muscular (Fig. 15).

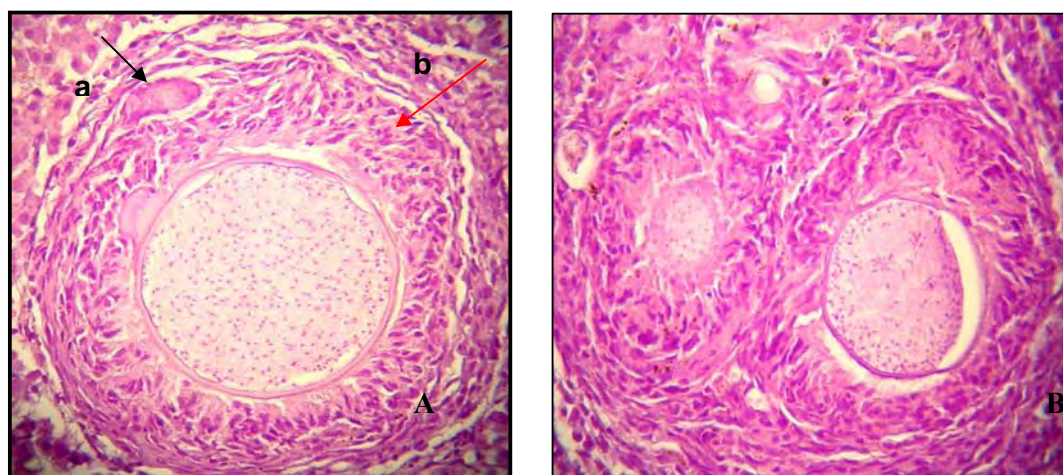


Figura 13. Presencia de esporas de *Ictiophonus sp.* con reacción granulomatosa en hígado (A) (a, célula gigante; b, células epitelioides) y riñón (B). H&E x 40.

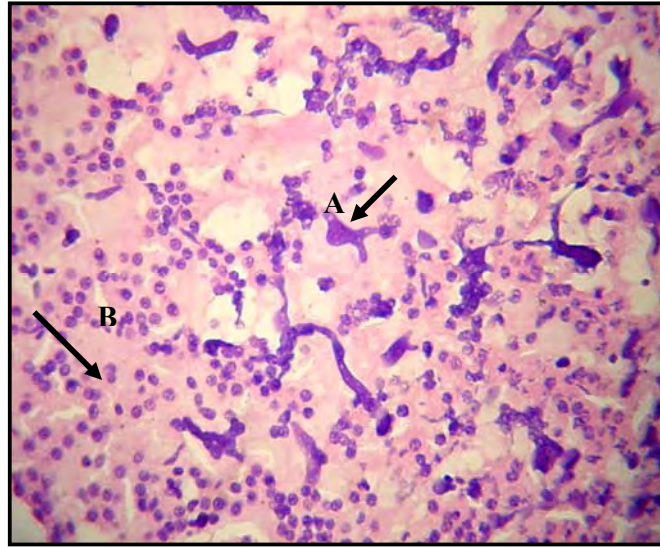


Figura 14. Hígado de trucha. Se puede apreciar la presencia de hifas de *Ictiophonus sp.* (flecha A), produciendo severa necrosis del tejido (flecha B). H&E x 40.

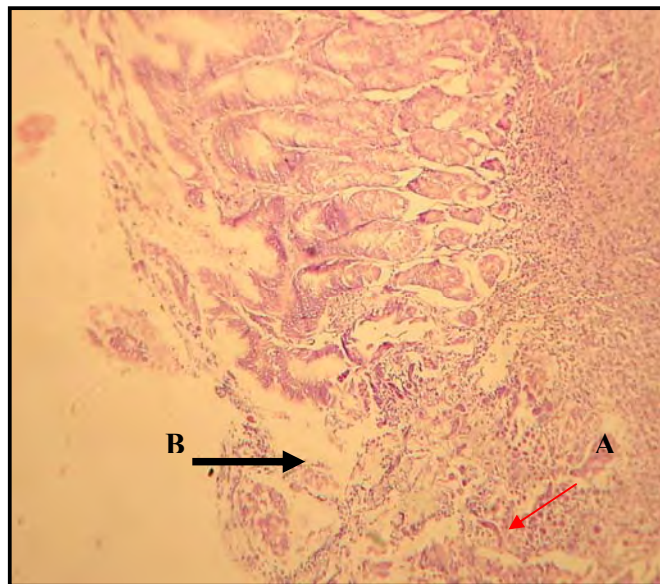


Figura 15. Severa presencia de hifas de *Ictiophonus sp.* (flecha A) produciendo necrosis del epitelio de la mucosa gástrica (flecha B). H&E x 10.

Se encontraron lesiones asociadas a trastornos de crecimiento en diversos órganos como hígado (Fig. 16-A), riñón (Fig. 16-B), bazo, estómago (Cuadro A3). La hiperplasia del epitelio de la mucosa gástrica fue la de mayor frecuencia, 60% (Fig. 17), predominando los grados I y II, en las diversas lesiones. Además se observó en estómago otras lesiones degenerativas resaltando la necrosis de glándulas gástricas, 55% y la necrosis del epitelio de la mucosa, 27.5% (Cuadro 4).

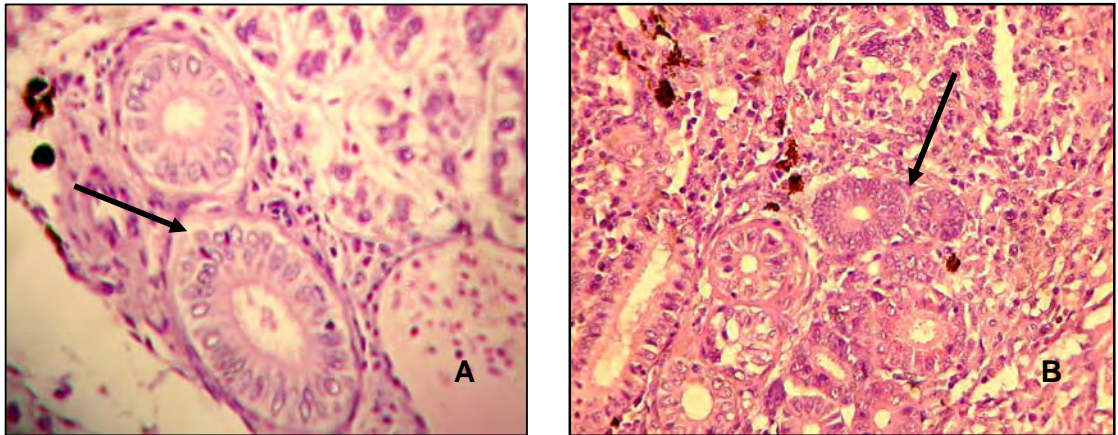


Figura 16. Trastornos de crecimiento: (A) hiperplasia del epitelio y del conducto biliar (flecha) y (B) regeneración e hiperplasia de túbulos renales (flecha). H&E x 40.

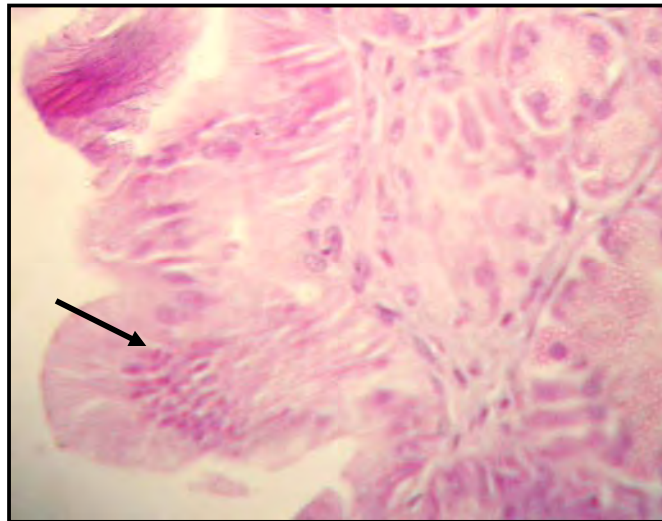


Figura 17. Trastornos de crecimiento: Hiperplasia del epitelio de la mucosa gástrica (flecha). H&E x 40.

También se observó trastornos inflamatorios como presencia de células granulares eosinofílicas (CGE) en branquias y en diversos órganos se observó granulomas con esporas, granulomas de origen no determinado y centros melanomacrófagos (CMM) en diversos grados (Cuadro A5). Finalmente, se determinó trastornos circulatorios en hígado, branquias y bazo (Cuadro A6).

## V. DISCUSIÓN

En nuestro país no se han realizado estudios sobre lesiones compatibles con alteración de energía y/o proteínas en truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*).

En el presente estudio, como lesión macroscópica compatible con alteraciones metabólicas en el hígado de truchas arcoiris juveniles se encontró una coloración marrón pálida en un 67.5%, que es una evidencia de degeneración grasa tal como lo menciona Brown (2000) y Roberts (1989). Similar resultado encontró Rosenthal (2007) en truchas arcoiris de crianza intensiva en el Perú, provenientes de una piscigranja de Junín, en un 41.3% (24/58).

Entre las lesiones microscópicas compatibles con alteraciones metabólicas en hígado de truchas arcoiris del presente estudio, se observó alta frecuencia de degeneración grasa en 97.5%, difiriendo con lo obtenido por Rosenthal (2007) también en truchas arcoiris en Perú, López *et al.* (2001) y Cubillos *et al.* (2001) en salmónidos en Chile, quienes encontraron una frecuencia de degeneración grasa de 70.6% (36/58), 45.6% (323/709) y 51.2% (182/355), respectivamente. Pero coincide con Rosenthal (2007), en que la degeneración grasa de grado III y grado IV son los de mayor presentación.

Según Ferguson (1989), la razón por la cual, dentro de los trastornos degenerativos, la degeneración grasa constituye el cuadro más importante y severo; se debe, en cierta forma, por el rol del hígado como órgano encargado de los procesos de detoxificación en el organismo. Sin embargo, una de las causas más importantes de la degeneración grasa, según Roberts (1989), Iregui (2004) y Ferguson (2006), son los altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados en el alimento, que por su exposición al oxígeno atmosférico, almacenamiento a temperaturas altas o lugares húmedos, pueden sufrir

oxidación. También puede ser por dietas rancias o dietas deficientes en vitamina E, que puede producir la peroxidación de lípidos, que afectan a vitaminas, proteínas y lípidos de la dieta disminuyendo su valor biológico. Kalegeropoulos *et al.* (1992) menciona como otra causa de degeneración grasa cuando la cantidad de lípidos ingerida se excede a la capacidad de almacenamiento del órgano. También la sobrealimentación y una dieta excesivamente rica en energía que podría producir una acumulación de lípidos en los hepatocitos (Wolf y Wolfe, 2005).

Se ha determinado que el gasto de energía asociado al de proteínas, puede ser reducido si los lípidos de la dieta se incrementan. En dietas para truchas arcoiris, la proteína puede ser reducida de 48% a 35%, sin afectar el crecimiento ni el peso del pez, si el nivel de lípidos se incrementa de 15% a 20% (NRC, 1993; Takeuchi *et al.*, 1978). Además, Watanabe (1979) y Cho (1982) mencionan que el nivel recomendado de proteínas para truchas en crecimiento es de 36%.

En la piscigranja de crianza intensiva de nuestro estudio, a las truchas les suministraban alimento concentrado, cuyo análisis proximal que registra la empresa del alimento comercial, nos muestra que utilizan una elevada cantidad de proteína 42% y niveles bajos de lípidos 12% , los cuales no son adecuados para esta etapa productiva (truchas en crecimiento). Así mismo, este alimento comercial incluye el mismo nivel de lípidos para todas las etapas productivas. Por otro lado, se observó una inadecuada información por parte de la empresa del nivel de energía que debe proporcionar el alimento, según Cho (1982) y NRC (1993) el nivel adecuado de energía digestible para salmónidos es de 14-17MJ/kg de alimento.

Según Blanco (1995), cuando el alimento contiene más proteína de lo que puede utilizar el pez y el aporte de aminoácidos a los tejidos supera sus capacidades biosintéticas, el excedente es catabolizado en el hígado y en ciertas ocasiones puede producir glucógeno o triglicéridos contribuyendo así a la formación de reservas de hidratos de carbono y grasas. Esto explicaría porque en el presente trabajo hay una alta frecuencia de presentación de degeneración grasa, probablemente debido al exceso de proteínas en el alimento concentrado comercial que utiliza la piscigranja.



Además, también contribuye a la degeneración grasa, los ayunos prolongados, lo cual se caracteriza en fases tempranas por una movilización rápida de las reservas, si son periodos largos de ayuno se asocia a un pronunciado catabolismo de lípidos y proteínas, produciendo la pérdida de peso, según lo mencionan Vigliano, *et al.* (2002) y durante el ayuno hay un aumento de la actividad gluconeogénica en hígado utilizando los aminoácidos como sustrato para la síntesis de glucosa, tal como lo indican Vigliano, *et al.* (2002) y Guillaume *et al.* (2004) y la glucosa puede ser trasformada en grasa (Maynard *et al.*, 1979). Esto concuerda con la rutina de alimentación que realizan en la piscigranja, en que le suministraban solo dos veces al día y fuera de hora en espacios largos de ayuno a las truchas arco iris juveniles y a veces los fines de semana solo lo realizaban una vez al día, cuando el suministro de alimento requerido de acuerdo a su peso (50g) es de tres hasta cuatro veces al día, tal como lo indica Tacon (1992). Además, las consecuencias del ayuno son más pronunciadas en los estadíos juveniles de los peces -estadio que utilizamos en la presente investigación- debido a una menor cantidad de reservas energéticas según Gadomski y Petersen (1988) y Richard *et al.*, (1991).

Los trastornos degenerativos son procesos reversibles; pero si el proceso que lo ocasiona se agrava y persiste, la degeneración grasa conduce, en muchos de los casos, a la necrosis de los hepatocitos, según Jones y Hunt (1990), lo cual coincide con lo encontrado en el presente trabajo, ya que la necrosis coagulativa de los hepatocitos obtuvo una alta frecuencia 87.5% coincidiendo con la presentación de degeneración grasa. Jubb *et al.* (1990) menciona que si persiste la noxa, la respuesta del parénquima hepático se agrava conllevando a la presencia de hiperplasia de conductos biliares y a la necrosis del tejido; pero en el presente estudio la hiperplasia de conductos biliares obtuvo una baja presentación (15%).

Según Lovell (1991), Wilson (1994) y Guillaume (1991), los manejos alimenticios empleados para los salmónidos, deben de considerar que son peces carnívoros que están adaptados a emplear fuentes energéticas fundamentalmente de aminoácidos y ácidos grasos más que carbohidratos. Cowey y Walton (1989), Suarez Mommsen (1987) y Wilson (1994) también mencionan que los carbohidratos (azúcares simples) contribuyen

a disminuir el uso de las proteínas como gasto de energía y reducir la contaminación del medio acuático debido a los desechos nitrogenados. Por lo tanto es importante su empleo en todas las etapas productivas de la trucha arco iris, no solo en la etapa de inicio como lo maneja el alimento comercial usado en esta piscigranja.

En cuanto a las lesiones encontradas en riñón, la degeneración hialina se encontró en una alta frecuencia 62.5%, se presenta como gránulos o gotas hialinas eosinofílicas de diferentes tamaños en el citoplasma de los túbulos renales y representa la proteína que ha sido reabsorbida del filtrado glomerular desde la luz tubular como lo indica Hibiya (1982), Roberts (1989) e Iregui (2004). Fergusson (2006) menciona que este material proteináceo se debe a un daño producido en el glomérulo y que su presencia principalmente se observa en el primer segmento del túbulo proximal, porque es activo en la fagocitosis y pinocitosis de materiales que pasan el filtro glomerular (Trump *et al.*, 1975; Endo y Kimura, 1984) como lo describió Domitrovic (2000) en el pez *Cichlasoma dimerus*.

Ferguson (2006) también lo asocia en salmónidos, a sustancias tóxicas y altos niveles de amoníaco que incrementan la permeabilidad de la membrana basal, dicha información no se ha podido confirmar ya que no se realizó ningún estudio de los niveles de amoníaco del agua, aunque con la elevada cantidad de proteínas del alimento concentrado que utilizó la piscigranja y sabiendo que el amoníaco es eliminado por las branquias hacia el medio acuático, no se puede descartar esta teoría. Jones *et al.* (1997) e Iregui (2004) mencionan la presencia de estos gránulos o gotas hialinas en el citoplasma de diversos órganos como: estómago, intestino, ciego, hígado y riñón. Ramos (2007) determinó su presencia en el epitelio de la mucosa gástrica en un 62% (25/40) en gamitanas en el Perú, en el presente estudio se observó en glándulas gástricas y en menor frecuencia 7.5% (3/40) en truchas arcoiris.

También estas estructuras hialinas fueron observadas en el riñón de paco (*Piaractus brachipomus*), relacionándolas a desarreglos en la formulación de la dieta, posiblemente a un exceso de proteínas en el alimento según Verján (2002). Además Iregui (2004) observó en peces aparentemente sanos lesiones compatibles con exceso y/o deficiente digestibilidad y/o inapropiado formulación de la proteína en la dieta



como la degeneración hialina en túbulos renales y hepatocitos de cachama, dorada, bagre, trucha y tilapia. Confirmando lo anteriormente descrito, Jiménez, *et al.* (2008) realizaron un trabajo donde ofreció dietas isoenergéticas con diferentes niveles de proteína a alevinos de Tilapia (*Oreochromis nilotica*), observándose la presencia de degeneración hialina de los túbulos renales y en los hepatocitos, de los animales alimentados con los mayores niveles de proteína 44% y 50%. Estas evidencias estarían corroborándose con lo hallado en el presente estudio, ya que el alimento que proporcionan en la piscigranja, contiene niveles elevados de proteína 42%, para las truchas arco iris juveniles, lo que explicaría la presencia de la degeneración hialina en los túbulos renales, siendo los grados I y II las de mayor presentación y en glándulas gástricas de las muestras del presente trabajo.

Las alteraciones degenerativas en el riñón, son de alta frecuencia, según Peters (2000) la degeneración de tipo proteica más frecuente es la degeneración vacuolar en 31.1% (47/151) seguida por la degeneración hialina 17.2% (26/151), lo cual difiere el presente estudio ya que nosotros encontramos 52.5% (21/40) y 62.5% (25/40), respectivamente. Estas diferencias pueden ser atribuidas al menor número de tamaño muestral del presente estudio. Hibiya (1982) menciona que la degeneración vacuolar antecede a la presentación de la degeneración hialina y la excesiva acumulación hialina podría conllevar a la necrosis del epitelio, evidenciándose por la vacuolización del citoplasma y la picnosis. En el presente estudio se observó necrosis coagulativa en 90%; apreciándose que la necrosis de los túbulos se producía por la degeneración hialina, también por la presencia de esporas 50%, granulomas con espora 40% y granulomas de origen no determinado, producían necrosis de los túbulos renales adyacentes.

Con respecto a las branquias, en el presente estudio se observó que los trastornos de crecimiento obtuvieron una mayor frecuencia como la hiperplasia lamelar 75%, atrofia y fusión lamelar 72.5% y atrofia de filamento 55%. Estas alteraciones para Iregui (2004) podría deberse a la peroxidación lipídica, que también puede afectar a nivel branquial, debido a la acción de los peróxidos induciendo a deficiencia del ácido pantoténico, trayendo como consecuencia las lesiones histopatológicas antes mencionados. Sin embargo, además de las lesiones degenerativas como la degeneración

grasa no existen otras lesiones relacionadas a la peroxidación, tales como la necrosis de células epitelio de mucosa del estómago donde se observarían picnosis, cariorexis y cariólisis, celular dando un aspecto característico de fragmentación de la célula, que nos permitan evidenciar su presencia en el estudio.

Por otro lado, las branquias son consideradas como un reflejo de la calidad del agua para la ictipatología, debido a esto cualquier alteración en su medio acuático produciría un daño a ese nivel (Paperna, 1996; Roberts, 1989). Según Iregui (2004) el exceso y/o deficiente digestibilidad y/o inapropiado formulación de proteína en la dieta, es un contaminante de las aguas. En la piscigranja del estudio, utilizan un alimento concentrado para truchas que posee un nivel de proteína excesivo 42%, este exceso de proteína sirve como sustrato para múltiples microorganismos, que pudieran alterar el sistema respiratorio de los peces. Además, el exceso de proteína en el pez induce un a mayor excreción de los compuestos de su metabolismo, eliminándose mayor cantidad de nitrógeno y amoníaco al medio acuático por las branquias, dando como consecuencia la contaminación del agua como lo menciona Iregui (2004) y Kinkelin (1995). El exceso de producción de amoníaco produce alteraciones a nivel branquial como hiperplasia, fusión lamelar, atrofia de lamelas (Brown 2000), lesiones que fueron observadas en el 75% de los peces muestreados. Lo que confirmaría lesiones compatibles a mala calidad de agua debido al desbalance de proteínas/energía.

En el Perú, Ramos (2007) observó en peces tropicales como la gamitana que presentaron alta frecuencia de hiperplasia lamelar 100% en grado II, a diferencia del presente estudio que mayormente encontramos en grado I en truchas arco iris. Así mismo Iregui (2004) en estudios realizados en Colombia observo mayor frecuencia de lesiones como atrofia lamelar, hiperplasia lamelar e inflamación de filamento en peces tropicales como cachama y tilapia, y en menor frecuencia en truchas arco iris. Ramos (2007) e Iregui (2004) sugieren que estas lesiones se deben a la mala calidad del agua, especialmente en peces tropicales, debido a que en su cultivo las fuentes de agua suelen provenir de ríos, lagunas o quebradas, que generalmente presentan alta carga de materia orgánica y otros tipos de desechos tóxicos. Estas evidencias confirman que existen alteraciones debido a la inadecuada o deficiente proporción de energía y proteína del alimento balanceado comercial que suministran en esta piscigranja, lo que ocasiona

contaminación del medio acuático e induce a lesiones histopatológicas compatibles a la mala calidad del agua a nivel de branquias.

Además, se encontraron otras lesiones macroscópicas no compatibles con alteraciones metabólicas como las asociadas a la presencia de puntos blanquecinos en diferentes órganos los cuales se relacionaron a la presencia de esporas o granulomas con esporas compatibles con hongo *Ictiophonus sp.* observadas microscópicamente, de manera similar a las descritas por Mateo (1996).

Otras lesiones microscópicas no compatibles con alteraciones metabólicas fue la presencia de trastornos infecciosos asociados al hongo *Ictiophonus sp.*, de tipo sistémico, manifestada por el hallazgo de esporas en diversos tejidos tales como: riñón, hígado, estómago y bazo, en varias de las truchas muestreadas. Según Mateo (1996), los órganos más frecuentemente infectados por la ictiofonosis son los que presentan mayor vascularización. También menciona que según el ciclo vital del hongo, éste ingresaría al torrente sanguíneo a nivel del tracto gastrointestinal, esta información concuerda con lo encontrado por el presente estudio, debido a que en el estómago se encontró la presencia de *Ictiophonus sp.* en fase de hifas, conllevando a la necrosis focalizada o difusa de la mucosa y submucosa, en algunas ocasiones llegó a afectar hasta las capas musculares del estómago. Aunque también se encontró hifas de *Ictiophonus sp.* en hígado, ocasionando una severa necrosis del tejido.

Luego de atravesar la barrera intestinal invade, en primer lugar, el corazón, seguido principalmente por el riñón y el hígado como lo reportan Amlacher (1970) y McVicar (1982), en el presente estudio la mayor presencia de esporas se observó en el tejido renal y hepático, generalmente en grado I. Dichas esporas forman en muchos casos granulomas con la presencia de células epitelioides bordeando toda la reacción como lo reportan Hibiya (1982) y Noga (2000). Tanto las esporas con reacción aguda y las respuestas inflamatorias de tipo crónica como los granulomas con esporas, hacen suponer que existe una disfunción de los órganos invadidos que, con el transcurso del tiempo, conducirán probablemente a la muerte del pez como lo mencionan Agius (1978), McVicar (1982), Miyazaki y Jo (1985). En el presente estudio la presencia de esporas, tanto la reacción aguda como la crónica, conlleva en muchos de los casos a la

necrosis de tejidos; no se logró evidenciar algún signo clínico de la enfermedad o comportamiento anormal, coincidiendo con lo encontrado por Mateo (1996). Dicho autor encontró una prevalencia de 90% de ictiofonosis, en peces de aproximadamente 7 meses de edad pertenecientes a la misma piscigranja en estudio.

Entre los trastornos de crecimiento se observó regeneración tubular en un 45%, Reimschuessel (2001) menciona que al igual que los mamíferos, el riñón de los peces tiene la capacidad de regeneración, generalmente en animales jóvenes, si las células son dañadas tienen la capacidad de ser reemplazadas por un nuevo epitelio, restaurando la integridad del túbulo. Ferguson (2006), también sostiene que cuando hay un daño en los túbulos renales, que puede ser inducido por agentes infecciosos o tóxicos, se produce una regeneración celular, además el factor primordial para que se de este fenómeno es la conservación íntegra de la membrana basal, sin ella esa proliferación sería de manera desordenada, con pérdida de la morfología orgánica y de la función como lo menciona Trigo (1993). En el presente estudio la regeneración celular observada en los túbulos se originó posiblemente como reacción al daño ocasionado por la degeneración hialina que en muchos de los casos conllevó al proceso de necrosis de los túbulos, también a la reacción proliferativa alrededor de las esporas de *Ictiophonus* sp. y la presencia de granulomas, ya sea como reacción a las esporas o a las de origen no determinado, que causarían compresión de los vasos sanguíneos y de los túbulos renales, y su consecuente necrosis.

Por otro lado, los trastornos de crecimiento en estómago como la hiperplasia, tanto de la mucosa como de las glándulas gástricas, probablemente se ocasionó por el ayuno prolongado, que tiene efecto sobre la mucosa gastrointestinal, produciendo un desequilibrio de la membrana protectora de la mucosa que comprenden, el epitelio de la mucosa, las células caliciformes a nivel del intestino, secreción de moco, factores inmunológicos entre otros, que se complementan con el fin de proteger y realizar el proceso digestivo, sin embargo en situaciones de estrés, como el ayuno, se produce un desbalance de este equilibrio, lo cual causa un daño a la mucosa al estimular las células que producen ácido clorhídrico el cual es secretado (Lambert, 2003 y Farhadi, 2003).

En cuanto a la congestión observada en hígado 75% y bazo 25%, según Hibiya (1982), Ferguson (1989) y Cubillos *et al* (2001) relacionan la congestión en casos de falla cardíaca o en cardiomiopatías nutricionales debido a dietas rancias o decientes en vitamina E que originan necrosis de Zenker en las fibras musculares del miocardio, lo cual va acompañada de esteatosis hepática o cirrosis en casos graves. Dicha información no se puede corroborar, ya que no se hizo un estudio histopatológico del corazón de las truchas.

A nivel de branquias también se observó trastornos circulatorios como edema lamelar y congestión. El edema lamelar, 45% (18/40), que probablemente este asociada al daño del epitelio branquial, debido a exposiciones continuas a niveles elevados de amonio por la materia orgánica (Hibiya, 1982), también por contaminantes irritantes como los metales pesados o ciertos pesticidas que producen que aumente la permeabilidad capilar de las lamelas, si la lesión avanza puede producirse una separación de las lamelas y del filamento, provocando necrosis de las células del epitelio lamelar, alterando así la respiración (Roberts, 1989). La congestión en filamento 45%, que puede estar asociada a causas traumáticas de origen físico o químico, y es común encontrarlo en peces de cultivo después de alguna selección, a veces puede estar asociada también a parásitos o contaminantes como lo cita Brown (2000). Sin embargo, esto último no se relaciona a la congestión, debido a que solo se encontró un protozoo en grado escaso en 2.5%.

Así mismo, se observó la presencia de granulomas de origen no determinado, siendo de mayor frecuencia en riñón, con un 32.5% mayormente en grado I, que podría deberse a la acción de diferentes agentes como: bacterias (Nocardiosis, TBC, Actinomicosis, BKD), parásitos (mixosporidiosis), hongos (micosis renal por *Exophiala sp*) y por cuerpo extraño, según Ferguson (2006). La presencia de estos agentes no fueron determinados en el presente estudios; pero sería importante confirmar o no su presencia, para poder tomar medidas de control de su acción.

También se evidenció la presencia de centros melanomacrófagos siendo de mayor frecuencia en riñón 85% (34/40), que en hígado, branquias y bazo, observándose su presencia cercana a las células degeneradas y necrosadas, muy próximas a la presencia

de esporas de *Ictiophonus sp.* y granulomas. Los melanomacrófagos son células de la respuesta inmunológica características de los teleósteos, las cuales aumentan en número y medida y se tornan más oscuras en procesos de infección como lo indica Ferguson (2006). Asimismo, Fernández *et al.* (2004) concluye que los pigmentos como la melanina tendrían una acción bactericida directa en asociación con la peroxidasa, y su aumento se debería a su participación en la respuesta inmune. Según Agius (1985), Herráez y Zapata, 1986 y Roberts (1989), los CMM intervienen en los procesos de degeneración celular, se produce un aumento en número y tamaño de estos con la edad, en ayunos prolongados, deficiencias vitamínicas, anemias y procesos patológicos. Sin embargo, es posible también que el aumento de melanomacrófagos esté dado por algún agente patógeno o debido a la calidad del agua según Agius y Roberts (2003).

Finalmente, se observó CGE en filamento de branquias en 52.5 % (21/40) según Ezeasor y Stokoe (1980) también se localizan en tracto gastrointestinal, piel, corazón. Ferguson (2006) y Powell *et al.* (1991) mencionan que la función de dicha célula no es muy clara, pero se determinó que intervienen en procesos inflamatorios y defensa celular, aumentando en número en enfermedades crónicas. Dicha información tiene relación con lo hallado en el presente estudio, coincidiendo su presencia, en grado escaso a leve, con los otros trastornos en branquias.

## **VI. CONCLUSIÓN**

Se determinó lesiones compatibles con alteraciones metabólicas relacionadas a exceso de proteína como la degeneración hialina en riñón (62.5%) y estómago (7.5%), acompañada de degeneración grasa en hígado (97.5%) por desbalance de energía.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Siendo la piscicultura una actividad con una gran proyección e importante para el comercio local y externo, es recomendable que los centros piscícolas cuenten mínimo con una evaluación histopatológica, que les permita hacer diagnósticos periódicos de la sanidad del centro de crianza.
- Determinar si las dietas suministradas para las diferentes etapas de producción, también producen alteraciones metabólicas en las truchas arcoiris de cultivo.
- Control de la calidad de la dieta y su manejo.



### VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **Agius, C. 1978.** Infection by an Ichthyophonous- like fungus in the deep-sea scabbard fish *Aphanopus carbo* in the North East Atlantic. *Journal of Fish Diseases* 1:191-193.
2. **Agius, C. 1985.** The melano-macrophage centres of fish: A review. In: *Fish Immunology*. M. J. Manning y M. F. Tatner. Academic Press. Londres. pp: 85-106.
3. **Agius C. y R. Roberts. 2003.** Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*. 26: 499-509.
4. **Alabaster, J.; R. Lloyd. 1982.** *Water Quality Criteria for Freshwater Fish..* 2nd ed. Ed. Butterwood, London.
5. **Amlacher, E. 1970.** *Textbook of fish diseases.* T. F. H. Publications, New Jersey.
6. **Arzel, J.; F. Martinez; R. Metailler; G. Stephan; M. Viau; G. Gandermer; J. Guillaume. 1994.** Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. *Aquaculture* 123:361-375.

7. **Barnabé, G. 1991.** Acuicultura vol. II. 1ra ed. Ed. Omega- Barcelona. pag.115-126
8. **Bastardo, H.; C. Scorza; S. Sofia. 1997.** Histología hepática de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, alimentadas con dietas diferentes. Arch. Latinoam. Prod. Animal. 5(1):267-270.
9. **Bazán, L. 2002.** Utilización del aceite acidulado de pescado en reemplazo del aceite compuesto para la alimentación de truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis de Postgrado. Facultad de Ingeniería Pesquera. Universidad Nacional de la Agraria.
10. **Bernet, D.; H. Schmidt; W. Meier; P. Burkhardt-Holm; T. Wahli.1999.** Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. J. Fish. Dis. 22: 25-34
11. **Blanco, C. 1995.** La trucha cría industrial. 2da edición. Ed. Mundi Pesa. p. 361-370.
12. **Brody, S. 1945.** Bioenergetics and Growth. New York: Hofner.
13. **Brown, L. 2000.** Acuicultura para veterinarios: producción y clínica de peces. Ed. Acribia. España. p.140-175.
14. **Calderón, A. 1998.** Nutrición de peces. Tesis de Maestría. Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias Alimentarias. Univ. Nacional Federico Villareal.
15. **Cowey, C. 1975.** Aspects of protein utilization by fish. Proc. Nutr. Soc. 34: 57-63.
16. **Cowey, C. y R. Roberts. 1983.** Nutritional pathology of teleosts. En: Fish Pathology. Cap 10. Ed. Balliere- Tindall.

17. **Cowey C. y M. Walton. 1989.** Intermediary Metabolism, Fish Nutrition, edited by Halver E. New York: Academic. p. 259–329.
18. **Cruz, E. M. 1975.** Determination of nutrient digestibility in various classes of natural and purified feed materials for channel catfish. Ph.D. dissertation. Auburn University, Auburn, Alabama.
19. **Cubillos, V.; I. López; A. Alberdi. 2001.** Aspectos lesionales microscópicos en hígado de salmonideos, provenientes de centros de cultivo de la X<sup>a</sup> a XII<sup>a</sup> Región de Chile periodo 1988-1998. Arch. Med. Vet. 33:2.
20. **Cho, C. y S. Slinger. 1979.** Effect of water temperature on energy utilization in rainbow trout. Proceedings of the Eighth Symposium on Energy Metabolism in Farm Animals, S. E. Mont, ed. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press. p. 287-291.
21. **Cho, C. 1982.** Effects of dietary protein and lipid levels on energy metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Energy Metabolism of Farm Animals, A. Ekern and F. Sundstl, eds. Norway: European Association for Animal Production. p. 175-183.
22. **Cho, C. y S. Kaushik. 1990.** Nutritional energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). World Rev. Nutr. Diet. 61: 132-172.
23. **Domitrovic, H. 2000.** Histología e histopatología del riñón de *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae). Instituto de Ictiología del Nordeste. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nord-Este. Argentina.
24. **Endo M. y M. Kimura. 1984.** Structures and functions of segments in some teleostean nephrons. Jap. J. Ichthyology. 31: 71- 78.

- 25. Ezeasor, D.; W. Stokoe. 1980.** A cytochemical, light and electron microscopic study of the eosinophilic granule cells in the gut of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol., 17: 619-634.
- 26. Farhadi, A. A. Banan; J. Fields y K. Keshavarzian. 2003.** Intestinal barrier. An interface between health and disease. Journal of gastroenterology and hepatology. 18 (5): 479-497.
- 27. Ferguson, H. 1989.** Systemic Pathology of Fish: A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. Iowa State University Press.
- 28. Ferguson, H. 2006.** Systemic Pathology of Fish. 2da ed. Ed. Scotian press. p 39-45, 95-100, 201-215.
- 29. Fernández, A.; I. De Blas; I. Ruiz. 2004.** El sistema inmune de los teleósteos. Laboratorio de Ictioapatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España. p.1-10
- 30. Gadomski, D. y J. Petersen. 1988.** Effect of food deprivation on the larvae of two flatfishes. Mar. Ecol. Progr. Ser. 44:103-111.
- 31. Goldstein, L. y R. Forster. 1970.** Nitrogen metabolism in fish: Comparative Biochemistry of Nitrogen Metabolism, The Vertelers, J. W. Campbell, Ed. New York: Academic Press. Vol. 2. p. 495-515
- 32. Guillaume, J. 1991.** Nutrición y alimentación en peces. 1ra jornada sobre nutrición y alimentación de peces. Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Mayo 22 y 23. Santiago de Chile.
- 33. Guillaume, J.; S. Kaushik; P. Bergot; R. Metailler. 2004.** Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Ed. Mundi-Prensa. p. 130-140; 165-174; 220-233.

34. **Halver, J. 1972.** Fish nutrition. Academic, Press. New York.
35. **Herráez, M. y A. Zapata. 1986.** Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish (*Carassius auratus*). Vet. Immunol. Immunopathol., 12:117-126.
36. **Herpher, B. 1993.** Nutrición en peces comerciales en estanques. 1ra ed. Ed. De Limusa.
37. **Hibiya, H. 1982.** An atlas of fish histology-Normal and pathological. Features. Ed. Kodansha Ltd (Tokio, Japón) p. 133; 140-147.
38. **Hillestad, M.; F. Johsen. 1994.** High-energy/low protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality. Aquaculture 124: 109-116.
39. **Hilton, J. 1989.** The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. Aquaculture 79: 223-244.
40. **Iregui, C. 2004.** Primer mapa epidemiológico de las lesiones y enfermedades de los peces en Colombia-Bogota. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. p. 62.
41. **Jiménez, S.; E. Herrera; E. Hernández; M. Guarín; A. Wills; C. Iregui. 2008.** Efecto de dietas isoenergéticas con diferentes niveles de proteína sobre algunos parámetros productivos y sobre algunos órganos de Alevinos de Tilapia *Oreochromis nilótica* variedad chitralada. Memorias II Curso Seminario Internacional de Ictiopatología. Colombia.
42. **Jones, T. y R. Hunt. 1990.** Patología Veterinaria. 5ta ed. Ed. Lea & Febiger
43. **Jones, T.; R. Hunt y N. King. 1997.** Veterinary Pathology. 6ta ed.

44. **Jubb, K.; S. Kennedy y N. Palmer. 1990.** Patología de los animales domésticos. 3ra ed. Vol. 3. Hemisferio sur-Uruguay. p 277-310.
45. **Kalogeropoulos N., M. Alexis y R. Henderson. 1992.** Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead (*Spaurus aurata*). Aquaculture. 104:293-308.
46. **Kaushik, J. y F. Medale. 1994.** Energy requirement, utilization and dietary supply to salmonids. Aquaculture 124: 81-87.
47. **Kinkelin, J.; C. Michel; P. Ghittino. 1995.** Tratado de las enfermedades de los peces. Ed. Acribia. España. p. 49-51.
48. **Lall, S. 2000.** Nutrition and health of fish. Institute for Marine Biosciences. National Research Council of Canada. p.1-18.
49. **Lambert, G. 2003.** Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. Journal of Animal Science. Abstract.
50. **López, I.; V. Cubillos; S. Ernst y C. Rosenfeld. 2001.** Frecuencia y distribución según edad y estacionalidad, de patologías hepáticas en salmonídeos, provenientes de la X<sup>a</sup> a XII<sup>a</sup> Región de Chile. Periodo 1988-1998. Arch. Med. Vet. 32:2.
51. **Lovell, T. 1991.** The nutrients. Nutrition and feeding of fish. 1ra. ed. Ed. An AVI Book. Van Nostrand Reinhold. New York. p. 11-20.
52. **McVicar, a. 1982.** Ichthyophonus infection of fish. In: Microbial Diseases of Fish. Academic Press, London. p. 243-269.
53. **Mantilla-Mendoza, B. 2004.** Acuicultura: cultivo de truchas en jaulas flotantes. Ed. Palomino-Perú. p. 34-37;118.

- 54. Martin A. y K. Blaxter. 1965.** The energy cost of urea synthesis in sheep. Ed. New York: Academic Press. p. 83-91.
- 55. Martínez-Pereda Calvo, A. 1996.** La perfusión de branquias como modelo de valoración de la calidad de agua y su relación con la producción intensiva de truchas. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. p. 122.
- 56. Mateo, D. 1996.** La ictiofonosis y su prevalencia en las principales piscigranjas del Valle del Mantaro. Tesis de posgrado. Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias alimentarias. Univ. Nacional Federico Villareal.p.125.
- 57. Maynard, L.; J. Loosli; H. Hintz; R. Warner. 1979.** Nutrición animal. 7ma ed. Ed. McGraw- Hill. P. 98-102; 176-191.
- 58. Miyazaki, T. y Y. Jo. 1985.** Studies on Ichthyophonous disease of ayu. Fish Pathology 20:45-48.
- 59. Morais, S.; J. Gordon; D. Robertson; W. Roy; P. Morris. 2001.** Protein/lipid ratios in extruded diets for atlantic cod (*Gadus morhua* L.): effects on growth, feed utilization muscle composition and liver histology. Aquaculture 203: 101-119.
- 60. Nacional Research Council (NRC). 1993.** Nutrient requirement of cold water fishes. Nutrient Requirements of Domestic animals National Academy Press, Washington, 16:63.
- 61. Noga, E. 2000.** Fish disease: diagnostic and treatment. 1ra ed. Ed. Iowa State University press. p. 139-162.
- 62. Paperna, I. 1996.** Parasites, infections and diseases of fishes in Africa. An update. CIFA technical paper N°31, FAO, Roma. 220p.

- 63. Peters, C. 2000.** Estudio epidemiológico de las lesiones renales de salmonideos provenientes de centros de cultivo de la X<sup>a</sup> a la XII<sup>a</sup> Región de Chile, y su relación con la edad y las estaciones del año, periodo 1988- 1998. Tesis de Licenciado en Medicina Veterinaria Instituto de Medicina Preventiva. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Austral de Chile. p. 66.
- 64. Popma, T. 1982.** Digestibility of selected feedstuffs and naturally occurring algae by tilapia. Ph.D. dissertation. Auburn University, Auburn, Alabama.
- 65. Powell, M.; G. Wright y J. Burka. 1991.** Degranulation of eosinophilic granule cells induced by capsaicin and substance P in the intestine of the rainbow trout. Cell Tissue Res., 266: 467-474.
- 66. Produce. 2004.** Ministerio de la Producción. Vice-Ministerio de la Pesquería: Piscicultura de la trucha-Lima, Perú.
- 67. Produce, 2007.** Ministerio de la Producción.  
Disponible en: [www.produce.gob.pe/produce/dna/Panorama.Acuicultura.pdf](http://www.produce.gob.pe/produce/dna/Panorama.Acuicultura.pdf).
- 68. Ramos, F. 2007.** Evaluación de lesiones histopatológicas y aislamiento bacteriológico de algunos de los principales tejidos de gamitadas (*Colossoma macropomum*). Tesis de pregrado. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. p. 72.
- 69. Reincherbach-klinke, H. 1980.** Enfermedades de los peces. 2da ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- 70. Reimschuessel R.; R. Bennett; M. Lipsky. 1992.** Communications. A Classification System for Histological Lesions. Journal of Aquatic Animal Health. 4:135-143.
- 71. Reimschuessel, R. 2001.** A Fish Model of renal regeneration and development. ILARI. Journal. 42(4): 285-291.



- 72. Richard, P.; J. Bergeron; M. Boulhic; R. Galois; J. Person-Le Ruyet. 1991.** Effects of starvation on RNA, DNA and protein content of laboratory-reared larvae and juvenils of *Solea solea*. Mar Ecol. Progr. Ser. 68:269-277.
- 73. Roald, S. 1976.** An outbreak of liver lipoid degeneration (LLD) in Atlantic salmon in a fish farm and attempts to cure disease. Nordisk Veterinary Medicine. 28: 243-249.
- 74. Roberts, R. 1989.** Fish Pathology. 2nd ed. Ed. Ballière-Tindall. London, England. p. 337-355.
- 75. Rosenthal, H. 1989.** Water quality: problems and solutions. En "Aquaculture. A biotechnology in progress". De Pauw, N., Jaspers, E., Ackefors, H. y Wilkins, N. European Aquaculture Society, Bredene, Belgica.
- 76. Rosenthal, S. 2007.** Frecuencia de lipidosis hepática (degeneración grasa) en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil de crianza intensiva en una piscigranja de la sierra central del Perú. Tesis de pregrado. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. p. 46.
- 77. Schreck, C. y W. Hiram, 1991.** Performance capacity of fish: stress and water quality. En "Aquaculture and water quality". Brune, D. E. y Tomasso. 1. R. (Eds.) Tite World Aquaculture Society, Baton Rouge
- 78. Shepherd, J y N. Bromage. 1999.** Piscicultura intensiva. Ed. Acribia. España. p.151-176.
- 79. Sies, H.; W. Stahl; A. Sundquist. 1992.** Antioxidant function of vitamins: vitamis E and C, beta-carotene and other carotenoids, Ann. New York Acad. Sci. 669:7-20.
- 80. Silverstein, J.; K. Dickhoff; E. Plisetskaya. 1999.** Regulation of nutrient intake and energy balance in salmon. Aquaculture. 177: 161-169.

81. **Smith, R. 1976.** Metabolizable energy of feedstuffs for trout. *Feedstuffs* 48: 16-21.
82. **Smith, C. 1979.** The prevention of liver degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Richardson fed rancid diets: a preliminary report. *Journal of fish diseases*. 2: 429-437
83. **Smith, G. y R. Sterley. 1999.** The Classification and Scientific Names of Rainbow and Cutthroat Trouls Fisheries. *Bull of the American Fisheries Society*. USA. 14:1.
84. **Spisni, E.; M. Tugnoli; A. Ponticelli; T. Mordenti; V. Tomasi. 1998.** Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts. *Journal of Fish Diseases*. 21: 177-184.
85. **Suarez R. y T. Mommsen. 1987.** Gluconeogenesis in teleost fishes. *Can J Zool* 65: 1869-1882.
86. **Tacon, A. 1992.** Paper presentado por la FAO/ Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: manual de capacitación. Brasilia-Brasil.
87. **Tacon, A. 1995.** Ictiopatología nutricional: Signos morfológicos de la carencia y toxicidad de los nutrients en los peces cultivados. FAO. Documento Técnico de Pesca N° 330. Italia. p. 77.
88. **Tarazona, J.; M. Muñoz; G. Carbonel; M. Carballo; J. Ortiz; M. Cebrián. 1990.** Estudio de la calidad del agua en las piscifactorias españolas. Análisis estadístico. *Actas III Congreso Nac. Acuicult.*: 917-922.
89. **Takeuchi, T. y T. Watanabe. 1977.** Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement of rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43: 893-898.

90. **Takeuchi T.; T. Watanabe; C. Ogino. 1978.** Dietary levels protein and lipids of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 50: 693-704.
91. **Trigo, F. 1993.** Patología general veterinaria. 2da ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. p 26-35.
92. **Trump, B.; R. Jones y S. Sahaphong. 1975.** Cellular effects of mercury on fish kidney tubules. EN: The Pathology of Fishes, Eds. W.E. Ribelin y G. Migaki, Univ. Wisconsin Press (Madison, Wisconsin): 585-612.
93. **Verján N. 2002.** Sistematización y caracterización de las enfermedades de la cachaza blanca (*Piaractus brachipomus*) en algunas regiones de los Llanos Orientales y estudio de la Enfermedad Septicémica. Tesis de Maestría en Salud y Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia.
94. **Verlhac, V. y J. Gabaudan. 1997.** The effect of vitamin C on Fish Health. Roche Technical Buletin, Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland, p.30.
95. **Vigliano F.; M. Quiroga; J. Nieto. 2002.** Adaptaciones metabólicas y realimentación en peces. Rev. ictiol. 10 (1/2):79-108.
96. **Waagbo, R. 1997.** The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: A review. Aquac. Fish. Manag. 25: 175-197.
97. **Watanabe, T.; F. Takashima; C. Ogino; T. Hibiya. (1970).** Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 36: 623-630.
98. **Watanabe, T. y F. Takashima. (1977).** Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 43: 819-830.
99. **Watanabe, T. 1979.** Fish Nutrition. Kangawa International Fisheries Training Centre. Japan International Cooperation Agency.

100. **Wilson, R. 1989.** Amino acids and proteins: In Fish Nutrition, 2nd ed. Ed. New York: Academic Press. p. 111-151.
101. **Wilson, R. 1994.** Utilisation of dietary carbohydrate by fish. Aquaculture. 124: 67-80.
102. **Wise, D.; J. Tomasso; T. Brandt. 1988.** Ascorbic acid inhibition of nitrite-induced methemoglobinaemia in channel catfish. Prog. Fish cult. 50, 77-80.
103. **Wolf J. y M. Wolfe. 2005.** A brief overview of noneoplastic hepatic toxicity in fish. Toxicologic Pathology. 33(1):75-85.

## IX. APÉNDICE

Cuadro A1. Frecuencia de lesiones macroscópicas encontradas en hígado, riñón, estómago, branquias y bazo (n=40).

ÓRGANOS	LESIONES	TOTAL	%
<b>Hígado</b>	Marrón pálido	27	67,5
	Presencia de puntos blanquecinos	3	7,5
<b>Riñón</b>	Presencia de puntos blanquecinos	6	15
<b>Branquias</b>	Ligeramente pálidas	2	5
	Presencia de puntos blanquecinos	5	12,5
<b>Estómago</b>	Presencia de nodulaciones anaranjadas	5	12,5
<b>Bazo</b>	Presencia de puntos blanquecinos	1	2,5

Cuadro A2. Frecuencia de trastornos infecciosos asociadas a la presencia de de *Ictiophonus sp.* y *Microsporidium sp.* (n=40)

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
Infecciosos							
<i>Ictiophonus sp.</i>							
	Riñón	13	4	2	1	20	50
	Hígado	10	0	2	0	12	30
	Estómago	3	2	3	3	11	27,5
	Bazo	5	0	0	0	5	12,5
<i>Microsporidium sp.</i>							
	Branquias	1	0	0	0	1	2,5

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).

Cuadro A3. Frecuencia de trastornos del crecimiento encontradas en hígado, riñón, estómago y bazo (n=40).

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
DE CRECIMIENTO	<b>Hígado</b>						
	Hiperplasia de conductos biliares	3	2	1	0	6	15
	<b>Riñón</b>						
	Regeneración tubular	6	11	1	0	18	45
	Hiperplasia epitelioTubular	4	1	0	0	5	12,5
	<b>Estómago</b>						
	Hiperplasia de epitelio de la mucosa	9	7	4	4	24	60
	Hiperplasia glándulas gástricas	0	4	4	0	8	20
	Atrofia de tejido Muscular	0	1	0	0	1	2,5
	<b>Bazo</b>						
	Disminución linfoide	1	0	0	0	1	2,5

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).  
%: porcentaje.

Cuadro A 4. Frecuencia de trastornos degenerativos en estómago (n=40).

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
<b>DEGENERATIVOS</b>	Necrosis de glándulas gástricas	8	5	5	4	22	55
	Necrosis del epitelio de la mucosa	0	5	2	4	11	27,5
	Necrosis muscular	0	0	2	1	3	7,5

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).  
 %: porcentaje.

Cuadro A5. Frecuencia de trastornos inflamatorios encontradas en riñón, hígado, branquias y bazo (n=40).

TRASTORNO	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
INFLAMATORIO	<b>Riñón</b>						
	Granulomas c/espora	9	3	2	2	16	40
	Granulomas	10	2	0	1	13	32,5
	CMM	9	17	8	0	34	85
	<b>Hígado</b>						
	Granulomas c/espora	8	3	0	0	11	27,5
	Granulomas	5	0	1	0	6	15
	CMM	15	0	0	0	15	37,5
	<b>Branquias</b>						
	CGE	11	5	4	1	21	52,5
	CMM	3	0	0	0	3	7,5
	<b>Estómago</b>						
	Infiltración Inflamatoria en submucosa	2	2	2	1	7	17,5
	<b>Bazo</b>						
	Granulomas c/espora	3	0	0	1	4	10
	Granulomas	1	0	0	0	1	2,5
	CMM	10	2	0	0	12	30

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).

CMM: Centros melanomacrófagos.

%; porcentaje.



**Cuadro A 6.** Frecuencia de trastornos circulatorios encontradas en hígado, branquias y bazo (n=40).

TRASTORNOS	LESIONES	GRADO				ALTERACIÓN	
		I	II	III	IV	TOTAL	%
CIRCULATORIOS	<b>Higado</b>						
	Congestión	14	5	11	2	30	75
	<b>Branquias</b>						
	Congestión en filamento	3	8	6	1	18	45
	Edema lamelar	12	3	1	2	18	45
	<b>Bazo</b>						
	Congestión	1	7	2	0	10	25

Clasificación de lesiones y grado de lesiones: I = Escaso, II = Leve, III = Moderado y IV = Severo (Adaptada de Reimschuessel *et al.*, 1992).

**Anexo A1. Materiales utilizados para la necropsia de las truchas, procesamiento histopatológico y observación de lámina**

- **De necropsia**
  - ✓ Frascos de plástico
  - ✓ Tijeras
  - ✓ Bisturí
  - ✓ Hoja de bisturí
  - ✓ Guantes
  - ✓ Pinzas
  - ✓ Formalina tamponada al 10%
- **Proceso histopatológico**
  - ✓ Láminas portaobjetos y cubreobjetos
  - ✓ Alcohol etílico
  - ✓ Xilol
  - ✓ Parafina
  - ✓ Microtomo
  - ✓ Hematoxilina
  - ✓ Eosina
- **Observación de láminas**
  - ✓ Microscopio óptico con objetos de 10X, 40X e inmersión.
  - ✓ Cámara digital

## Anexo A2: Protocolo de necropsia



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Facultad de Medicina Veterinaria

Laboratorio de Histopatología Animal



### PROTOCOLO DE NECROPSIA EN PECES

Fecha de envío al Laboratorio:		Número de registro	
Nombre y dirección:		Teléfono:	Fecha de recepción:
Nombre vulgar:		Nombre científico:	
Identificación de origen del caso #	Ident. Del estanque o jaula:	Edad	Sexo <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> M
Uso: <input type="checkbox"/> Alevín <input type="checkbox"/> Juvenil <input type="checkbox"/> Engorde <input type="checkbox"/> Reproducción <input type="checkbox"/> Cuarentena <input type="checkbox"/> Investigación <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/> .....	Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> Animal vivo <input type="checkbox"/> Tej. Preservado <input type="checkbox"/> Animal muerto <input type="checkbox"/> Tej. sin preserv Fijador: .....	Tipo de muerte: <input type="checkbox"/> Natural <input type="checkbox"/> Eutanasia (tipo): .....	
Tejidos recibidos: <input type="checkbox"/> piel <input type="checkbox"/> branquias <input type="checkbox"/> boca <input type="checkbox"/> intestino grueso <input type="checkbox"/> riñón anterior <input type="checkbox"/> músculo <input type="checkbox"/> ojo (s) <input type="checkbox"/> esófago <input type="checkbox"/> bazo <input type="checkbox"/> riñón medio <input type="checkbox"/> hueso <input type="checkbox"/> cerebro <input type="checkbox"/> estómago <input type="checkbox"/> hígado <input type="checkbox"/> riñón posterior <input type="checkbox"/> cartílago <input type="checkbox"/> tiroides <input type="checkbox"/> ciegos pilóricos <input type="checkbox"/> páncreas <input type="checkbox"/> tiroides <input type="checkbox"/> aleta (s) <input type="checkbox"/> línea lateral <input type="checkbox"/> intestino delgado <input type="checkbox"/> gónada <input type="checkbox"/> vej natatoria <input type="checkbox"/> otro: ..... <input type="checkbox"/> otro: .....			
<b>HISTORIA CLINICA: Antecedentes</b> 1). ¿Cuándo se detectó? ..... ..... ..... 2). Síntomas: ..... ..... ..... 3). Tratamientos: ..... ..... ..... 4). Calidad de agua. ..... ..... ..... 5). Resultados. Biopsia ..... ..... ..... 6). Análisis de apoyo (adjuntar resultados) <input type="checkbox"/> Parasitología <input type="checkbox"/> Microbiología <input type="checkbox"/> Hematología <input type="checkbox"/> Virología <input type="checkbox"/> Otro: .....			

# FICHA DE NECROPSIA

Fecha:	# Referencia:	Sexo:
Edad:	Longitud:	Peso:
<b>EXAMEN GENERAL:</b>		
<u>Condición física:</u>	<input type="checkbox"/> buena <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> mala	<i>Obsv.....</i>
<u>Orificios:</u>	<input type="checkbox"/> no ocluidos <input type="checkbox"/> ocluidos <input type="checkbox"/> otro	
<u>Superficie del cuerpo:</u>		
<input type="checkbox"/> Aspecto normal azulada	<input type="checkbox"/> Coloración blanco grisácea	<input type="checkbox"/> coloración blanco
<input type="checkbox"/> congestión	<input type="checkbox"/> ulceración	<input type="checkbox"/> zonas de necrosis
<input type="checkbox"/> granulación dermis	<input type="checkbox"/> lesiones con sangre y/o exudados	<input type="checkbox"/> pequeños puntos en la
<input type="checkbox"/> puntos negros quistes	<input type="checkbox"/> puntos blancos o blanquecinos	<input type="checkbox"/> presencia de bultos o
<input type="checkbox"/> oscurecimiento parcial	<input type="checkbox"/> oscurecimiento total	<input type="checkbox"/> presencia de parásitos
<input type="checkbox"/> copos blancos	<input type="checkbox"/> presencia de tumores	<input type="checkbox"/>
<u>otras.....</u>		
<u>Aletas:</u>		
<input type="checkbox"/> aspecto normal	<input type="checkbox"/> deshilachamiento parcial o total	<input type="checkbox"/> congestión <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> necrosis		
<input type="checkbox"/> con puntos blancos	<input type="checkbox"/> con puntos negros	<input type="checkbox"/> hemorragias <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> edematoso	<input type="checkbox"/> signos de micosis <input type="checkbox"/> otras.....	
<u>Prep. a fresco</u> <input type="checkbox"/> :		
Piel:		
<b>Dibujar lesiones en general</b>		

**SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y ORGANOS SENSORIALES:****OJOS**

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> Aspecto normal                       | <input type="checkbox"/> Exoftalmia unilateral | <input type="checkbox"/> Exoftalmia bilateral                |
| <input type="checkbox"/> Opacidad                             | <input type="checkbox"/> Congestión            | <input type="checkbox"/> Presencia de cataratas              |
| <input type="checkbox"/> Ceguera manifiesta                   |  | <input type="checkbox"/> Puntos blancos en la lente          |
| <input type="checkbox"/> Presencia de petequias intraoculares |  | <input type="checkbox"/> Presencia de petequias perioculares |
| <input type="checkbox"/> Otras anormalidades.....             |  |  |

**LINEA****LATERAL:**.....**CEREBRO**

- |   |                                    |  |   |
|---|------------------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> Aspecto normal | <input type="checkbox"/> Edematoso | <input type="checkbox"/> Congestionado | <input type="checkbox"/> Con hemorragia |
|---|------------------------------------|--|---|

**MENINGES****Frotis:** ☐***SISTEMA RESPIRATORIO:*****OPERCULOS**

- |   |                                     |                                       |  |
|---|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Aspecto normal | <input type="checkbox"/> Muy cortos | <input type="checkbox"/> Muy abiertos | <input type="checkbox"/> Con signo de miosis |
|---|-------------------------------------|---------------------------------------|--|

**BRANQUIAS**

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Aspecto normal                             | <input type="checkbox"/> Coloración normal                                | <input type="checkbox"/> Presencia de abundante moco          |
| <input type="checkbox"/> branquias rojo oscuro                      | <input type="checkbox"/> branquias rosadas                                | <input type="checkbox"/> Branquias con aspecto anémico        |
| <input type="checkbox"/> branquias blanquesinas                     | <input type="checkbox"/> Congestión                                       | <input type="checkbox"/> Petequias                            |
| <input type="checkbox"/> Branquias con necrosis                     | <input type="checkbox"/> Signos de miosis                                 | <input type="checkbox"/> Fusión de los filamentos branquiales |
| <input type="checkbox"/> Granos de arena o arcilla en las branquias | <input type="checkbox"/> Restos de alimento sobre la superficie branquial |   |
| <input type="checkbox"/> Presencia de parásitos en las branquias    | <input type="checkbox"/> Otras anormalidades .....                        |   |

Biopsia de Branquias ☐***SISTEMA GASTROINTESTINAL*****CAVIDAD CELOMICA**☐ Peritoneo.....☐

mesenterios.....

- |   |   |  |
|---|---|--|
| <input type="checkbox"/> Aspecto normal | <input type="checkbox"/> Presencia de un líquido incoloro | <input type="checkbox"/> Pcia de líquido sanguinolento |
|---|---|--|

☐ Presencia de hemorragias ☐ Congestión de pared abdominal ☐**Otras:**..... ☐ Frotis ☐ Recuperación de líquido ascítico**BOCA:**

**ESOFAGO**

☐ Aspecto normal   ☐ Mucosa engrosada   ☐ mucosa con hemorragias   ☐ otro.....

**ESTOMAGO**

☐ Aspecto externo normal   ☐ Aspecto interno normal   ☐ sin contenido alimenticio  
☐ con restos de alimento   ☐ con abundante mucosidad   ☐ presencia de parásitos  
☐ presencia de concreciones   ☐ mucosa congestionada   ☐ mucosa con hemorragias  
☐ mucosa engrosada   ☐ mucosa necrosada   ☐ presencia de micosis  
☐ congestión de vasos externos   ☐ otro .....

**CIEGOS PILORICOS**

☐ Aspecto normal   ☐ Congestión   ☐ Signos de necrosis   ☐ Presencia de parásitos  
☐ coloración anormal   ☐ coloración pálida   ☐ contenido amarillento..  
☐ Impronta:

**TRACTO INTESTINAL**

☐ Aspecto normal   ☐ Intestino lleno de alimento   ☐ Intestino vacío  
☐ Intestino lleno de moco   ☐ Contenido intestinal amarillento   ☐ Congestión  
☐ Signos de necrosis   ☐ Congestión y hemorragias en serosa   ☐ Presencia de parásitos  
☐ Congestión y hemorragias a nivel del recto   ☐ Otro.....  
☐ Raspado intestinal:

**SISTEMA CIRCULATORIO****CORAZON:**

☐ Aspecto normal   ☐ Dilatado   ☐ Con signos de atrofia  
☐ Congestión   ☐ Presencia de hemorragias   ☐ Presencia de quistes  
☐ Color pálido   ☐ Presencia de granulomas   ☐  
Otro.....

**GRANDES VASOS****Hematocrito(%)**

**Frotis:** ☐

**HIGADO**

☐ Aspecto normal   ☐ Coloración rojiza   ☐ Coloración pálida   ☐ Coloración amarillenta  
☐ Hemorragias   ☐ Presencia de quistes   ☐ Presencia de parásitos   ☐ Tumores  
☐ Aspecto grasoso   ☐ Aspecto friable   ☐ Consistencia dura al tacto  
☐ Presencia de granulomas   ☐ Otras.....  
Impronta: ☐

<b>VESICULA BILIAR</b> <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Aspecto perlado <input type="checkbox"/> Dilatada <input type="checkbox"/> Bilis de color verdoso <input type="checkbox"/> Bilis de color amarillento verdoso <input type="checkbox"/> Bilis de aspecto acuoso <input type="checkbox"/> Bilis de color negruzco <input type="checkbox"/> Otras anormalidades..... Impronta: <input type="checkbox"/>			
<b>BAZO</b> <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Dilatado <input type="checkbox"/> Congestionado <input type="checkbox"/> Color rojo cereza <input type="checkbox"/> Color negruzco <input type="checkbox"/> Petequias <input type="checkbox"/> Quistes <input type="checkbox"/> Granulomas <input type="checkbox"/> Otras..... <b>Impronta</b> <input type="checkbox"/> :			
<b>PANCREAS</b> <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Dilatado <input type="checkbox"/> Congestionado <input type="checkbox"/> Color rojo cereza <input type="checkbox"/> Color negruzco <input type="checkbox"/> Presencia de petequias <input type="checkbox"/> Presencia de quistes <input type="checkbox"/> Presencia de granulomas <input type="checkbox"/> Otro ..... <b>Impronta:</b> <input type="checkbox"/>			
<b>SISTEMA REPRODUCTIVO</b> <u><b>GONADAS</b></u> <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Con signos de atrofia <input type="checkbox"/> Congestión <input type="checkbox"/> Petequias <input type="checkbox"/> Signos de retención de los huevos <input type="checkbox"/> Presencia de parásitos <input type="checkbox"/> Otras..... <input type="checkbox"/> Impronta:			
<b>VEJIGA NATATORIA</b> <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Congestión <input type="checkbox"/> Presencia de líquido <input type="checkbox"/> Presencia de parásitos <input type="checkbox"/> Otras ..... Raspado int/ext: <input type="checkbox"/>			
<b>SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO (huesos, músculos, cartílagos)</b> <input type="checkbox"/> aspecto normal <input type="checkbox"/> presencia de quistes o bultos <input type="checkbox"/> presencia de parásitos <input type="checkbox"/> presencia de úlceras <input type="checkbox"/> presencia de necrosis <input type="checkbox"/> congestión <input type="checkbox"/> signos de micosis <input type="checkbox"/> licuefacción focalizada <input type="checkbox"/> otras..... <input type="checkbox"/> Impronta:			

---

Nombre y firma del que realiza la necropsia

### **Anexo A3. Procesamiento de las muestras**

- **Fijación de muestras**

Inmediatamente de obtenidas las muestras se procedieron a fijar cada una de ellas con formalina bufferada al 10% para conservar la estructura morfológica y química de las células y tejidos que permite realizar posteriormente los procedimientos de coloración.

- **Deshidratación**

Se realiza con el objetivo de eliminar el agua intra y extracelular para lo cual debemos deshidratar sumergiéndolos en líquidos anhidros, ávidos de agua. Se utilizaron alcoholes de distinta concentración.

Alcohol etílico al 70 por 100	1 hora
Alcohol etílico al 80 por 100	1 hora
Alcohol etílico al 95 por 100	1 hora
Alcohol etílico al 100 por 100	1 hora
Alcohol etílico al 100 por 100	1 hora
Alcohol etílico al 100 por 100	1 hora

- **Aclaración**

Este procedimiento permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con la cual el tejido va a ser impregnado y, tiene la propiedad de volver transparente a las muestras, para ello se utilizó el xilol continuando con el siguiente proceso:

Xilol 1	1 hora
Xilol 2	1 hora
Xilol 3	1 hora



- **Inclusión**

Este proceso comprende la impregnación de las muestras con un medio que llene todas las cavidades naturales, espacios e intersticios tisulares y aun los espacios intracelulares y, que proporcione la consistencia firme, necesaria para hacer los cortes bastantes delgados sin provocar distorsión, otra ventaja más es la maniobra de encerrarlos en un bloque de parafina permitiendo manejar y fijar la muestra al micrótomos sin dañar la muestra, siendo el método de la parafina el más simple y el mas común que se utilizó para lograr el objetivo siguiendo el siguiente proceso:

Parafina líquida I	1 hora
Parafina líquida II	2 horas

Posteriormente cada una de las muestras se colocó en el centro de un molde con parafina, se dejó reposar en el medio ambiente hasta que se solidifique.

- **Corte de la muestra**

Para el corte de las muestras se utilizó el microtomo de deslizamiento verificando que el microtomo este ajustado para el grosor de 5µm - 6µm, se colocó el bloque de parafina conteniendo la muestra y se comenzó el corte con impulsos regulares.

Luego se tomaron las laminas de parafina cortadas con el micrótomos conteniendo las muestras y se hizo flotar en un recipiente de agua a temperatura ambiente para quitar el excedente de parafina, se introdujo al recipiente una laminilla, se colocó la muestra en ella y se levantó suavemente con un movimiento uniforme y al tocar el borde de la muestra, esa se adhirió a ella y, se dejó escurrir la laminilla con la muestra impregnada a un ángulo de 60 grados aproximadamente durante dos a cinco minutos.

- **Secado de cortes**

Una vez los cortes de las muestras se colocaron en una estufa a temperaturas de 37°C a 40°C durante toda la noche. El secado permite que desaparezca toda huella de agua entre el corte y el portaobjetos.

- **Tinción de cortes**

Se utilizó la tinción más utilizada en histología que es de Hematoxilina Eosina (H&E) que son colorantes de contraste. La hematoxilina, que permite observar las estructuras físicas del núcleo, y la eosina, que permite distinguir los detalles del citoplasma de las células.

#### **Anexo A4. Protocolo de coloración de hematoxilina y eosina**

##### **SOLUCIONES:**

##### **Solución colorante de hematoxilina de Harris (Hemalumbre de Harris)**

Hematoxilina (C.I. 75290)	5,0 g
Alcohol corriente 95%	50,0 ml
Sulfato doble de aluminio y potasio o sulfato doble de aluminio y amonio	100 g
Agua corriente	1000,0 ml
Oxido mercuríco rojo o amarillo	2,0 g

Disolver la hematoxilina en el alcohol, el sulfato doble de aluminio en el agua con ayuda del calor. Mezclar las dos soluciones. Llevar la mezcla a ebullición tan rápido como sea posible, luego sacarla del calor y adicionar el óxido mercuríco. Recalentar la mezcla, hasta que tenga un color púrpura oscuro, cerca de 1 minuto. Luego retirar del calor y enfriar rápidamente para poder usarla.

##### **Solución stock de eosina acuosa al 1%**

Eosina amarilla (C.I.45380)	10,0 g
Agua destilada	1000,0 ml

##### **Disolver y adicionar:**

Ácido acético glacial	2,0 ml
-----------------------	--------

### **Solución colorante de trabajo de eosina**

Solución stock de eosina acuosa al 1%	1 vol.
Alcohol al80%	3 vol.
Adicionar 0.5 ml de ácido acético glacial por cada 100 ml de solución colorante	

#### **Procedimiento:**

1. Desparafrinar los cortes en el xilol 1 durante 5 minutos.
2. Desparafrinar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
3. Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
4. Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
5. Tratar los cortes en alcohol corriente 1 durante 5 minutos.
6. Tratar los cortes en alcohol corriente 2 durante 5 minutos.
7. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
8. Colorear con la hematoxilina de Harris durante 5 minutos.
9. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
10. Colorear con la solución de trabajo de eosina, durante 2 minutos.
11. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
12. Tratar los cortes, rápidamente 3 veces en el alcohol corriente 1.
13. Tratar los cortes, rápidamente 3 veces en el alcohol corriente 2.
14. Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
15. Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
16. Tratar los cortes en el xilol 1 durante 5 minutos.
17. Tratar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
18. Montar en bálsamo de Canadá.

**Resultados:** Las estructuras basófilas se observan de color azul y las estructuras acidófilas o eosinófilas de color rosado.

(Referencia: Sedano G. y R. Neina. 2001. Guía de prácticas de la asignatura de Histoquímica. Facultad de Medicina. Escuela Académica de Tecnología Médica-UNMSM)